Версия 1-2020

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»

_____А.Г. Плехов

«__10__» _____2020 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения концентрации общего билирубина в сыворотке крови дихлоранилиновым методом

«БИЛИРУБИН ОБЩИЙ-ВИТАЛ»
ТУ 21.20.23-087-94568735-2020

1. НАЗНАЧЕНИЕ И ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

1.1. Набор реагентов для определения концентрации общего билирубина в сыворотке крови дихлоранилиновым методом «БИЛИРУБИН ОБЩИЙ-ВИТАЛ» предназначен для количественного определения концентрации общего билирубина в сыворотке крови человека в клинической лабораторной диагностике, клинической медицине, медицинской биохимии и научно-исследовательской практике. Набор реагентов «БИЛИРУБИН ОБЩИЙ-ВИТАЛ» предназначен для лабораторной in vitro диагностики и должен применяться специалистами, имеющими необходимую квалификацию в данной области в соответствии с требованиями документов, регламентирующих деятельность лаборатории.

1.2. Показания к использованию набора – определение концентрации общего билирубина в сыворотке крови с целью оценки функционального состояния гепатобилиарной системы для диагностики, мониторинга, контроля терапии вирусных, токсических, онкологических поражений печени и желчевыводящих путей, для диагностики заболеваний крови, для оценки физиологического состояния новорожденных.

Билирубин – продукт распада гема содержащих гем белков, в основном гемоглобина, катаболизм которого происходит в клетках костного мозга, селезенки, печени. При распаде гема образуется токсичный нерастворимый (непрямой) билирубин, который транспортируется альбумином в печень, где происходит его конъюгация с глюкуроновой кислотой с формированием нетоксичного растворимого (прямого) билирубина, включение в состав желчи и экскреция через желчевыводящие пути.

Повышение концентрации общего билирубина (прямого и непрямого) наблюдается при заболеваниях печени и желчевыводящих путей (вирусный гепатит, цирроз печени, гепатоцеллюлярная карцинома, желчнокаменная болезнь, холецистит, алкогольная интоксикация), заболеваниях крови (серповидно-клеточная анемия) и других патологических состояниях (гемолитическая анемия, гемолитическая болезнь новорожденных).

1.3. Набор реагентов «БИЛИРУБИН ОБЩИЙ-ВИТАЛ» может быть использован для исследования всех групп населения без градации по демографическому или популяционному признаку. Противопоказаний не имеет.

1.4. Набор выпускается в следующих вариантах исполнения:

Комплект 1:

- реагент 1 – 1 флакон (100 мл),

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- реагент 2 – 1 флакон (25 мл),
- калибратор – 1 флакон.

Комплект 2:
- реагент 1 – 2 флакона (по 84 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (42 мл),
- калибратор – 1 флакон.

Комплект 3:
- реагент 1 – 1 флакон (240 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (60 мл),
- калибратор – 1 флакон.

Комплект 4:
- реагент 1 – 2 флакона (по 205 мл),
- реагент 2 – 2 флакона (по 50 мл),
- калибратор – 2 флакона.

Комплект 5:
- реагент 1 – 2 флакона (по 240 мл),
- реагент 2 – 2 флакона (по 60 мл),
- калибратор – 2 флакона.

Комплект 6:
- реагент 1 – 4 флакона (по 40 мл),
- реагент 2 – 4 флакона (по 12 мл),
- калибратор – 1 флакон.

Комплект 7:
- реагент 1 – 4 флакона (по 20 мл),
- реагент 2 – 4 флакона (по 5 мл),
- калибратор – 1 флакон.

Комплект 8:
- реагент 1 – 8 флаконов (по 20 мл),
- реагент 2 – 8 флаконов (по 5 мл),
- калибратор – 1 флакон.

Комплект 9:
- реагент 1 – 3 флакона (по 52 мл),
- реагент 2 – 3 флакона (по 15 мл),
- калибратор – 1 флакон.

Комплект 10:
- реагент 1 – 6 флаконов (по 52 мл),
- реагент 2 – 6 флаконов (по 15 мл),
- калибратор – 2 флакона.

Комплект 11:
- реагент 1 – 2 флакона (по 72 мл),
- реагент 2 – 2 флакона (по 20 мл),
- калибратор – 1 флакон.

Комплект 12:
- реагент 1 – 4 флакона (по 72 мл),
- реагент 2 – 4 флакона (по 20 мл),
- калибратор – 2 флакона.

Комплект 13:
- реагент 1 – 6 флаконов (по 72 мл),
- реагент 2 – 6 флаконов (по 20 мл),
- калибратор – 2 флакона.

Комплект 14:
- реагент 1 – 4 флакона (по 20 мл),
- реагент 2 – 1 флакон (20 мл),
- калибратор – 1 флакон.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Комплект 15:
- реагент 1 – 4 флакона (по 35 мл),
- реагент 2 – 2 флакона (по 18 мл),
- калибратор – 1 флакон.

Комплект 16:
- реагент 1 – 4 флакона (по 32 мл),
- реагент 2 – 4 флакона (по 8 мл),
- калибратор – 1 флакон.

Комплект 17:
- реагент 1 – 4 флакона (по 38 мл),
- реагент 2 – 2 флакона (по 20 мл),
- калибратор – 1 флакон.

Калибратор во всех вариантах исполнений – калибровочный образец общего билирубина, лиофилизированный, аттестован по стандартному материалу NIST SRM 916a; после растворения в 2,0 мл дистиллированной воды концентрация общего билирубина составляет 85,5 мкмоль/л (5,1 мг/дл) и указана в паспорте на набор и на этикетке флакона.

При использовании 0,4 мл реагента 1 и 0,1 мл реагента 2 на один анализ варианты исполнения набора рассчитаны на следующее количество анализов:

Комплект 1 – 250 определений,
Комплект 2 – 420 определений,
Комплект 3 – 600 определений,
Комплект 4 – 1000 определений,
Комплект 5 – 1200 определений,
Комплект 6 – 800 определений,
Комплект 7 – 280 определений,
Комплект 8 – 560 определений,
Комплект 9 – 750 определений,
Комплект 10 – 1500 определений,
Комплект 11 – 700 определений,
Комплект 12 – 1400 определений,
Комплект 13 – 2100 определений,
Комплект 14 – 340 определений,
Комплект 15 – 610 определений,
Комплект 16 – 540 определений,
Комплект 17 – 690 определений.

2. ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

2.1. В кислой среде под действием детергента общий билирубин диссоциирует на прямой и непрямой билирубин и реагирует с диазотированным 2,4-дихлоранилином с образованием азосоединения красного цвета, оптическая плотность которого измеряется фотометрически при длине волны 546 (520-560) нм. Реакция производится методом «по конечной точке» с холостой пробой по образцу. Концентрация общего билирубина в анализируемых образцах прямо пропорциональна величине оптической плотности исследуемых образцов.

2.2. Набор реагентов «БИЛИРУБИН ОБЩИЙ-ВИТАЛ» может быть использован на спектрофотометрах, полуавтоматических или автоматических биохимических анализаторах с возможностью выполнения измерения при длине волны 546 (520-560) нм при температуре инкубации +18-25°С или +37°С.

Использование набора реагентов «БИЛИРУБИН ОБЩИЙ-ВИТАЛ» на каждом анализаторе осуществляется в соответствии с руководством пользователя для анализатора. Параметры для ввода в программу анализаторов предоставляются по запросу.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

3. СОСТАВ НАБОРА

В состав набора входят:

- реагент 1: натрия фосфат однозамещенный, 100 ммоль/л; натрия хлорид, 154 ммоль/л; тритон Х-100, 2 г/л; готов к использованию:
  - комплект 1 - 1 флакон (100 мл),
  - комплект 2 - 2 флакона (по 84 мл),
  - комплект 3 - 1 флакон (240 мл),
  - комплект 4 - 2 флакона (по 205 мл),
  - комплект 5 - 2 флакона (по 240 мл),
  - комплект 6 - 4 флакона (по 40 мл),
  - комплект 7 - 4 флакона (по 20 мл),
  - комплект 8 - 8 флаконов (по 20 мл),
  - комплект 9 - 3 флакона (по 52 мл),
  - комплект 10 - 6 флаконов (по 52 мл),
  - комплект 11 - 2 флакона (по 72 мл),
  - комплект 12 - 4 флакона (по 72 мл),
  - комплект 13 - 6 флаконов (по 72 мл),
  - комплект 14 - 4 флакона (по 20 мл),
  - комплект 15 - 4 флакона (по 35 мл),
  - комплект 16 - 4 флакона (по 32 мл),
  - комплект 17 - 4 флакона (по 38 мл).
- реагент 2: натрия фосфат однозамещенный, 100 ммоль/л; 2,4-дихлоранилин, 1 ммоль/л; соляная кислота, 170 ммоль/л; готов к использованию:
  - комплект 1 - 1 флакон (25 мл),
  - комплект 2 - 1 флакон (42 мл),
  - комплект 3 - 1 флакон (60 мл),
  - комплект 4 - 2 флакона (по 50 мл),
  - комплект 5 - 2 флакона (по 60 мл),
  - комплект 6 - 4 флакона (по 12 мл),
  - комплект 7 - 4 флакона (по 5 мл),
  - комплект 8 - 8 флаконов (по 5 мл),
  - комплект 9 - 3 флакона (по 15 мл),
  - комплект 10 - 6 флаконов (по 15 мл),
  - комплект 11 - 2 флакона (по 20 мл),
  - комплект 12 - 4 флакона (по 20 мл),
  - комплект 13 - 6 флаконов (по 20 мл),
  - комплект 14 – 1 флакон (20 мл),
  - комплект 15 – 2 флакона (по 18 мл),
  - комплект 16 – 4 флакона (по 8 мл),
  - комплект 17 – 2 флакона (по 20 мл).
- калибратор: калибровочный образец общего билирубина, лиофилизированный, содержащий после растворения в 2,0 мл дистиллированной воды билирубин, 85,5 мкмоль/л (5,1 мг/дл); бычий сывороточный альбумин, 20 г/л; точная концентрация общего билирубина указана в паспорте на набор и на этикетке флакона; аттестован по стандартному материалу NIST SRM 916a:
  - комплекты 1-3, 6-9, 11, 14-17 - 1 флакон,
  - комплекты 4, 5, 10, 12, 13 - 2 флакона.

Примечание:

1. Материалы животного происхождения, входящие в состав реагентов, не представляют опасности для человека.

2. Метрологическая прослеживаемость калибратора, входящего в состав набора реагентов «БИЛИРУБИН ОБЩИЙ-ВИТАЛ» производится с использованием стандартного материала NIST SRM 916a, который является международно признанным калибратором. Метрологическая прослеживаемость калибратора осуществляется путем выполнения

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

протокола переноса калибровки по стандартному материалу NIST SRM 916a с целью приписывания целевого значения калибратору, входящему в состав набора реагентов «БИЛИРУБИН ОБЩИЙ-ВИТАЛ».

4. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейная область определения общего билирубина в сыворотке крови – в диапазоне 1,7-515 мкмоль/л (0,101-30,6 мг/дл).

Чувствительность определения концентрации общего билирубина – 1,7 мкмоль/л (0,101 мг/дл).

Коэффициент вариации результатов измерений – не более 5 %.

Аналитическая специфичность набора «БИЛИРУБИН ОБЩИЙ-ВИТАЛ»: гемоглобин до концентрации 1 г/л, триглицериды до концентрации 26 ммоль/л и аскорбиновая кислота до концентрации 30 мг/дл не влияют на правильность определения концентрации общего билирубина.

Коэффициент пересчета единиц измерения: мкмоль/л : 16,85 = мг/дл.

Качество набора может проверяться по отечественным или зарубежным контрольным материалам, аттестованным данным методом.

Нормальные величины концентрации общего билирубина в сыворотке крови человека составляют:

Новорожденные: 1 день 2 день 3-5 день 7-14 день	 <149 мкмоль/л (8,8 мг/дл) <197 мкмоль/л (11,7 мг/дл) <205 мкмоль/л (12,2 мг/дл) <130 мкмоль/л (7,7 мг/дл)
Дети старше 14 дней и взрослые	<21 мкмоль/л (1,25 мг/дл)

Рекомендуется в каждой лаборатории уточнить диапазон значений нормальных величин для обследуемого контингента людей.

Аналитические характеристики метода исследования, используемого в наборе «БИЛИРУБИН ОБЩИЙ-ВИТАЛ», установлены в соответствии с требованиями ГОСТ Р 53022.2-2008, ГОСТ ISO 17511-2011.

5. ОБРАЗЦЫ

Свежая негемолизированная сыворотка крови.

Взятие крови для анализа следует проводить с использованием стандартных процедур для венозной крови, образцы сыворотки должны быть отделены от клеток крови центрифугированием. После центрифугирования сыворотка крови должна быть перенесена в отдельную пробирку.

Образцы можно хранить в темном месте не более 8 часов при температуре +2-8°С или не более 5 дней при температуре -18°С

Пробирки с образцами следует плотно закрывать. Повторное замораживание образцов не допускается.

6. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Реагент 2 содержит соляную кислоту. При работе с реагентами следует соблюдать осторожность и не допускать попадания на кожу и слизистые. В случае их попадания на кожу и слизистые следует промыть пораженное место большим количеством проточной воды.

При работе с набором следует соблюдать требования ГОСТ Р 52905-2007 и СП 1.3.2322-08.

При работе с набором и образцами сыворотки крови человека следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, рассматривать образцы как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Физические риски (возможность самопроизвольного взрыва или возгорания) отсутствуют.

7. ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ:

- спектрофотометр, полуавтоматический или автоматический биохимический анализатор с возможностью выполнения измерения при длине волны 546 (520-560) нм при температуре инкубации +18-25°С или +37°С;
- секундомер;
- дозаторы полуавтоматические одноканальные с одноразовыми наконечниками;
- микропробирки вместимостью 1,0-2,0 мл;
- физиологический раствор (0,9 % раствор NaCl);
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые.

8. ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Компоненты набора и исследуемые образцы сыворотки крови нагреть до выбранной температуры +18-25°С или +37°С.

Подготовка калибратора к анализу

Во флакон с лиофилизированным калибратором внести 2,0 мл дистиллированной воды и тщательно перемешать до полного растворения. Концентрация общего билирубина в калибраторе после растворения составляет 85,5 мкмоль/л (5,1 мг/дл).

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Длина волны: 546 (520-560) нм;
Длина оптического пути: 10 мм;
Температура инкубации: +18-25°С или +37°С;
Фотометрирование: против холостой пробы.

Внести в пробирки реагенты и анализируемые пробы в количествах, указанных в таблице 1.

Таблица 1.

	Опытная проба	Холостая проба (образца)	Калибровочная проба	Холостая проба (калибратора)
Реагент 1	400 мкл	400 мкл	400 мкл	400 мкл
Образец	10 мкл	10 мкл	-	-
Калибратор	-	-	10 мкл	10 мкл
Пробы тщательно перемешать, инкубировать 5 минут при выбранной температуре				
Реагент 2	100 мкл	-	100 мкл	-
Дистиллированная вода	-	100 мкл	-	100 мкл

Пробы тщательно перемешать, инкубировать 5 минут при +37° или 10 минут при +18-25°С, измерить оптическую плотность калибровочной пробы ($E_{кал}$) против холостой пробы калибратора, опытной пробы ($E_{оп}$) против холостой пробы образца.

Примечание. Расход реагентов набора зависит от типа используемого прибора.

10. РАСЧЕТЫ

Концентрацию общего билирубина (*C*, мкмоль/л (мг/дл)) в образце определить по формуле:

$$C = \frac{E_{оп}}{E_{кал}} \times C_{кал},$$

где: $E_{оп}$ – оптическая плотность опытной пробы, ед. опт. плотн.;
$E_{кал}$ – оптическая плотность калибровочной пробы, ед. опт. плотн.;
$C_{кал}$ – концентрация общего билирубина в калибраторе 85,5 мкмоль/л (5,1 мг/дл).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

11. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ НАБОРА

Набор реагентов для определения концентрации общего билирубина в сыворотке крови дихлоранилиновым методом «БИЛИРУБИН ОБЩИЙ-ВИТАЛ» должен храниться при температуре +2-8°С в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности. Допускается хранение набора при температуре до +25°С не более 5 суток.

Транспортирование наборов должно производиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с требованиями и правилами, принятыми на данном виде транспорта, при температуре +2-8°С. Допускается транспортирование наборов при температуре до +25°С не более 5 суток.

Замораживание компонентов набора не допускается.

Использование набора, транспортировавшегося или хранившегося с нарушением регламентированного температурного режима, не допускается.

12. УСЛОВИЯ ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Срок годности набора – 18 месяцев. До окончания срока годности набора, при условии соблюдения температурного режима хранения, транспортирования и эксплуатации, производитель гарантирует работоспособность набора и соответствие всех аналитических и диагностических характеристик набора заявленным. Не допускается использование серии набора по истечении срока ее годности. Набор реагентов не подлежит ремонту и техническому обслуживанию.

Реагенты 1 и 2 после вскрытия флаконов можно хранить в темном месте при температуре +2-8 °С не более 3 месяцев, при температуре до 25°С не более 5 суток при условии достаточной герметичности флаконов.

Калибратор после растворения можно хранить в темном месте при температуре +2-8°С не более 5 суток, при температуре -18°С не более 3 месяцев при условии достаточной герметичности флаконов. Повторное замораживание не допускается.

Реагенты 1 и 2 можно хранить на борту анализатора при температуре +2-8°С не более 2 месяцев при условии круглосуточного охлаждения.

Если значение концентрации общего билирубина в анализируемой пробе превышает 515 мкмоль/л (30,6 мг/дл), анализируемую пробу следует развести физиологическим раствором, повторить определение и полученный результат умножить на фактор разведения.

Производитель набора АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн» произвел верификацию и валидацию набора реагентов «БИЛИРУБИН ОБЩИЙ-ВИТАЛ». Результаты верификации и валидации, отраженные в протоколах предварительных испытаний опытных партий набора, признаны удовлетворяющими параметрам, заявленным в настоящей технической документации.

В процессе верификации и валидации набора реагентов «БИЛИРУБИН ОБЩИЙ-ВИТАЛ» была проведена оценка стабильности набора при хранении, использовании и транспортировке (ГОСТ Р ИСО 23640-2015); результаты, отраженные в протоколах стабильности набора и его компонентов, соответствуют заявленным срокам годности при хранении, использовании и транспортировке в соответствующих условиях.

В процессе разработки набора реагентов «БИЛИРУБИН ОБЩИЙ-ВИТАЛ» были оценены риски, связанные с возможным изменением параметров проведения анализа в лабораториях потребителей: изменение температуры и времени инкубации.

Оценка проводилась в соответствии с МИ СМК 07 по ИСО 14971:2011. По результатам анализа риски минимизированы до уровня «приемлемый».

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции. Любые отклонения от рекомендованных процедур проведения анализа могут привести к получению неверных результатов исследования.

13. СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ

Согласно классификации по СанПиН 2.1.7.2790-10 компоненты набора могут быть отнесены к классу «Б». Утилизацию использованных реагентов и реагентов с истекшим сроком годности производить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 в отношении отходов класса «Б».

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Дезинфекцию следует проводить в соответствии с МУ 287-113.

14. ЗАЩИТА ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Производитель гарантирует, что набор реагентов «БИЛИРУБИН ОБЩИЙ-ВИТАЛ» для биохимических исследований разработан и произведен с целью предотвращения любых рисков для окружающей среды. Набор в процессе использования не оказывает воздействия на окружающую среду и не приводит к ущербу для нее при соблюдении всех мер безопасности и утилизации набора, рекомендованных производителем.

15. ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

По вопросам, касающимся качества набора «БИЛИРУБИН ОБЩИЙ-ВИТАЛ», следует обращаться к производителю - в Акционерное Общество “Витал Девелопмент Корпорэйшн” (АО “Витал Девелопмент Корпорэйшн”) по адресу:

194356, Санкт-Петербург, Дорога в Каменку, д. 56, лит. А.

Тел/факс: (812) 702-10-86

Генеральный директор
АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн» А.Г. Плехов

Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР» П.К. Варнавичус

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Прошито, пронумеровано,
и скреплено печатью

Всего 8 листа(ов)

Ген. директор Плехов А.Г.

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 8 ЛИСТОВ

«10» 03 2020 год

Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавичус Н.К.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru