

Версия 1-2020

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»



А.Г. Плехов

«10» _____ 2020 г.

ИНСТРУКЦИЯ

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

«БИЛИРУБИН ПРЯМОЙ-ВИТАЛ»
ТУ 21.20.23-086-94568735-2020

1. НАЗНАЧЕНИЕ И ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

1.1. Набор реагентов для определения концентрации прямого билирубина в сыворотке крови дихлоранилиновым методом «БИЛИРУБИН ПРЯМОЙ-ВИТАЛ» предназначен для количественного определения концентрации прямого билирубина в сыворотке крови человека в клинической лабораторной диагностике, клинической медицине, медицинской биохимии и научно-исследовательской практике. Набор реагентов «БИЛИРУБИН ПРЯМОЙ-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 прямого билирубина в сыворотке крови с целью оценки функционального состояния гепатобилиарной системы для диагностики, мониторинга, контроля терапии вирусных, токсических, онкологических поражений печени и желчевыводящих путей, при диагностике редких наследственных заболеваний, связанных с нарушением выведения прямого билирубина клетками печени.

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 прямого билирубина наблюдается при обтурационной (механической) желтухе вследствие нарушения выведения прямого билирубина с желчью клетками печени и желчевыводящих путей, вызванного желчнокаменной болезнью, раком желчных протоков, раком головки поджелудочной железы; при паренхиматозной желтухе вследствие повреждения клеток печени, вызванного вирусным или алкогольным гепатитом, циррозом печени, метастазами в печени; при гемолитической болезни у новорожденных.

1.3. Набор реагентов «БИЛИРУБИН ПРЯМОЙ-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),
- 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.

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 прямого билирубина, лиофилизированный, аттестован по стандартному материалу NIST SRM 916a, после растворения в 1,0 мл дистиллированной воды содержащий известное количество прямого билирубина, точная концентрация которого 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 билирубин реагирует с диазотированным 2,4-дихлоранилином с образованием азосоединения красного цвета, оптическая плотность которого измеряется фотометрически при длине волны 546 (520-560). Реакция производится методом «по конечной

точке» с холостой пробой по образцу. Концентрация прямого билирубина в анализируемых образцах прямо пропорциональна величине оптической плотности исследуемых образцов.

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

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

3. СОСТАВ НАБОРА

В состав набора входят:

- реагент 1: натрия фосфат однозамещенный 100 ммоль/л; аминосульфоновая кислота 2 ммоль/л; этилендиаминтетрауксусная кислота динатриевая соль (ЭДТА) 5 ммоль/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; ЭДТА 5 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 прямого билирубина, лиофилизированный, аттестован по стандартному материалу NIST SRM 916a, после растворения в 1,0 мл дистиллированной воды содержит: бычий сывороточный альбумин 20 г/л, прямой билирубин, точная концентрация которого указана в паспорте на набор и на этикетке флакона.

- 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 ПРЯМОЙ-ВИТАЛ», производится с использованием стандартного материала NIST SRM 916a, который является международно признанным калибратором. Метрологическая прослеживаемость калибратора осуществляется путем выполнения протокола переноса калибровки по стандартному материалу NIST SRM 916a с целью приписывания целевого значения калибратору, входящего в состав набора реагентов «БИЛИРУБИН ПРЯМОЙ-ВИТАЛ».

4. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Линейная область определения – в диапазоне 1,7-260 мкмоль/л (0,107-16,3 мг/дл).

Чувствительность определения – 1,7 мкмоль/л (0,107 мг/дл).

Коэффициент вариации результатов измерений – не более 5 %.

Аналитическая специфичность набора «БИЛИРУБИН ПРЯМОЙ-ВИТАЛ»: гемоглобин до концентрации 0,25 г/л, триглицериды до концентрации 1 ммоль/л и аскорбиновая кислота до концентрации 0,4 мг/дл не влияют на правильность определения концентрации прямого билирубина.

Коэффициент пересчета единиц измерения: мкмоль/л : 15,91 = мг/дл.

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

Нормальные величины концентрации прямого билирубина в сыворотке крови человека составляют не более 9 мкмоль/л (0,57 мг/дл) для детей младше 10 дней, не более 5,1 мкмоль/л (0,32 мг/дл) для детей старше 10 дней и взрослых.

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

Аналитические характеристики метода исследования, используемого в наборе «БИЛИРУБИН ПРЯМОЙ-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°C или не более 5 дней при температуре -18°C. Пробирки с образцами следует плотно закрывать. Повторное замораживание образцов не допускается.

6. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2a.

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 и рассматривать их как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать возбудителей вирусной или бактериальной инфекции.

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°C или +37°C;
- 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°C или +37°C.

Подготовка калибратора к анализу

Во флакон с лиофилизированным калибратором внести 1,0 мл дистиллированной воды и тщательно перемешать до полного растворения. Точная концентрация прямого билирубина в калибраторе указана в паспорте на набор и на этикетке флакона.

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Длина волны: 546 (520-560) нм;

Длина оптического пути: 10 мм;

Температура инкубации: +18-25°C или +37°C;

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	40 мкл	40 мкл	-	-
Калибратор	-	-	40 мкл	40 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 (точно!) 5 минут при +37° или 10 минут при +18-25°C измерить оптическую плотность калибровочной пробы ($E_{\text{кал}}$) против холостой пробы калибратора, опытной пробы ($E_{\text{оп}}$) против холостой пробы образца.

Примечание. Расход реагентов набора зависит от типа используемого прибора.

10. РАСЧЕТЫ

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

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

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

11. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ НАБОРА

Набор реагентов для определения концентрации прямого билирубина в сыворотке крови дихлоранилиновым методом «БИЛИРУБИН ПРЯМОЙ-ВИТАЛ» должен храниться при температуре +2-8°C в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности. Допускается хранение набора при температуре до +25°C 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°C. Допускается транспортирование наборов при температуре до +25°C 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. Техническое обслуживание и ремонт медицинского изделия для диагностики *in vitro* не применяются.

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

Калибратор после растворения можно хранить в темном месте при температуре +2-8°C не более 8 часов, при температуре -18°C не более 1 месяца при условии достаточной герметичности флаконов. Повторное замораживание не допускается.

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

Если значение концентрации прямого билирубина в анализируемой пробе превышает 260 мкмоль/л (15,3 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 ПРЯМОЙ-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 ПРЯМОЙ-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 ПРЯМОЙ-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 14971:2007. 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».

Дезинфекцию следует проводить в соответствии с МУ 287-113.

14. ЗАЩИТА ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Производитель гарантирует, что набор реагентов «БИЛИРУБИН ПРЯМОЙ-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 ПРЯМОЙ-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»

Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»



А.Г. Плехов

П.К. Варнавичус

Прошито, пронумеровано,
и скреплено печатью

Всего

листа(ов)

Ген. директор

Плехов А.Г.



ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 8 ЛИСТОВ

«10» 03 2020 ГОД

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

