

REF 10207-4 4 x 29 mL / 8 mL

总胆红素 (TBIL)

楔形瓶, 每个楔形瓶含 R1 试剂可用量 29mL 和 R2 试剂可用量 8mL。

预期用途

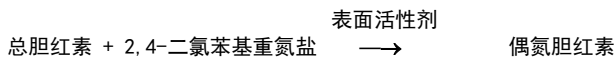
EasyRA TIBL 试剂目的是用于通过 MEDICA EasyRA® 临床化学分析仪进行成年人血清或血浆中总胆红素的定量测定。胆红素的测定用于诊断和治疗肝病、溶血病、血液病和代谢疾病, 包括肝炎和胆囊阻塞。仅用于体外诊断用途。仅供专业人士使用。

摘要和说明

胆红素是血红蛋白形成的一种色素, 因红细胞破坏而存在于血清中。胆红素水平增加, 可能是溶血过程、肝病或胆管疾病引起的。胆红素以两种形式存在: 未结合型(间接胆红素)和结合型(直接胆红素)。未结合型胆红素被转运到肝脏, 在肝脏被白蛋白结合, 并与葡萄糖醛酸结合形成结合型(直接)胆红素, 最后以此型排泄。未结合型胆红素不溶于水溶液, 需要乙醇和其它溶剂进行溶解。使用这些类型溶剂的分析测定总胆红素量。胆红素单葡萄糖苷酸和二葡萄糖苷酸结合物能溶于水, 这些类型的分析测定直接胆红素量。传统的方法涉及胆红素与重氮试剂(如 2,4-二氯苯基重氮盐)反应, 形成有色的化合物偶氮胆红素。加入各种添加剂如乙醇¹、咖啡因²和 DMSO³, 以便加速该反应和偶氮胆红素化合物的形成。也加入表面活性剂作为增溶剂⁴。

方法的原理

这个终点反应法测定总胆红素(结合型和非结合型), 是在表面活性剂存在下, 胆红素与 2,4-二氯苯基重氮盐结合形成偶氮胆红素。



在 550nm 处的吸收度增加, 与样本中总胆红素的浓度成正比。

试剂

TBIL 试剂 (R1):

NaCl	154mmol/L
HCl	190mmol/L
表面活性剂和防腐剂	

TBIL 试剂 (R2):

HCl	417mmol/L
2,4-二氯苯基重氮盐	5mmol/L

表面活性剂

注意事项

1. 当处理任何实验室试剂时，应遵守良好实验室安全规范 (CLSI, GP17-A2)。
2. 试剂 (R1 和 R2) 均为酸性溶液。不得吸入或吞服，避免与皮肤和眼睛接触。如发生眼部接触，立即用大量水清洗眼睛，并就医处理。如发生皮肤接触，应立即用水冲洗 10 分钟。如果吞服，应立即就医处理。请参考化学品安全说明书中的危险、危害和安全信息。
3. 就任何诊断试验方法而言，其结果应根据所有其它试验结果和患者的临床状况加以解释。
4. 不要使用清洗过的试管，即须用原装试管。

关于试剂搬运、贮藏和稳定性的说明

出售品的试剂可即时使用。未打开的试剂如于 2 - 8°C 下贮藏，在标签上列出的有效期限内是稳定的。试剂放在 EasyRA 分析仪的冷藏试剂区，在试剂楔形瓶上 RFID 芯片中预定的日数内是稳定的。如果试剂混浊或不透明，或无法达到已知血清对照值，则不要使用该试剂。

样本采集和贮藏/稳定性

应使用透明的、未发生溶血的血清或血浆。避免样本受阳光和人造光直射，因为直接（结合型）胆红素不稳定⁵。这项分析应在采集样本的 2 小时内进行，因为胆红素在样本中不稳定。如果样本不能在这段时间内分析，样本在 2 - 8°C 下可贮藏达 3 日⁶。样本也可在 -70°C 下贮藏 3 月。可以使用涂有肝素锂的试管来采集血浆。

程序步骤

提供的化学品

Medica 楔形瓶装 TBIL 试剂, REF 10207

要求的其它化学品

Medica EasyCal, 化学纯, REF 10651

Medica EasyQC, 化学纯/电解质 A 级, REF 10793

Medica EasyQC, 化学纯/电解质 B 级, REF 10794

Medica 楔形瓶装精密度试验用染液, REF 10764

Medica 楔形瓶装清洁剂-化学纯和 ISE 级, REF 10660 或

Medica 楔形瓶装清洁剂-化学纯, REF 10661

使用说明

出售品的试剂可即时使用。除去试剂上的盖子，将试剂放入 EasyRA 分析仪冷藏试剂区的试剂盘中。已打开的试剂放在 EasyRA 分析仪的冷藏试剂区，或者在首次打开后取下并于 2 - 8°C 下贮藏（加盖）时，在试剂楔形瓶上 RFID 芯片中预定的日数内（最长达 28 日）是稳定的。

注：在除去楔形瓶的盖子，将楔形瓶放在分析仪上时，应检查楔形瓶颈内部是否有泡沫。如果有泡沫，用拭子或一次性吸液管除去泡沫，再进行试验。对 R1 和 R2 试剂，应使用不同的清洁拭子或一次性吸液管。

校准

建议使用 Medica EasyCal（化学纯，REF 10651）进行测定校准。校准间隔时间在试剂楔形瓶上的 RFID 芯片上编程设定（最长达 7 日）。当试剂批次更改，或质控值发生偏移时，则要求进行校准。

质量控制

建议每天、执行患者检测和每批次更换时，用两个水平的、加入人血清制备的对照品（正常对照品和异常对照品）运行测定。如对照化学品的测定不能达到正常范围值，则表明试剂变质、仪器故障或程序步骤错误。在使用质控品时，实验室应遵循当地、州和联邦相关质控准则。

结果

测定完成后，Medica EasyRA 化学分析仪以未知样本的校正后吸收度与校准品的校正后吸收度的比值乘以校准品值，得出总胆红素浓度。

$$\text{TBIL (mg/dL)} = \frac{[(A_{U550} - A_{U600}) - (A_{RBIk550} - A_{RBIk600})] - [(A_{U550} - A_{U600}) \text{SBIk} - (A_{RBIk550} - A_{RBIk600}) \text{SBIk}]}{[(A_{C550} - A_{C600}) - (A_{RBIk550} - A_{RBIk600})] - [(A_{C550} - A_{C600}) \text{SBIk} - (A_{RBIk550} - A_{RBIk600}) \text{SBIk}]} \times \text{Cal Value} \times \text{dF}$$

(校准品值)

其中， A_U 和 A_C 分别是未知样本和校准品的吸收度值； A_{RBIk} 是空白试剂的吸收度值； SBIk 是空白样本；“Cal Value”是校准品中总胆红素的浓度 (mg/dL)。由于反应的体积随 R2 试剂加入而改变，计算中纳入了一个稀释校正因子 (dF)。

空白样本是采用下式、针对使用 R1 对比 (R1+R2) 引入的稀释因子差异进行校正：

$$df = \frac{R1 \text{ 体积} + \text{稀释剂体积} + \text{样本体积}}{\text{总体积}}$$

预期值¹⁰

血清中 TBIL 的参考范围如下：

成人：0.2 - 1.0mg/dL

这些值是指南。建议每个实验室建立其本身的常规值范围，因为仪器、实验室和当地人群之间存在差异。

程序限制规定（例如样本超出测定范围时）

应使用未发生溶血的血清或血浆样本。本试剂未针对新生儿进行过评估。

EasyRA 分析仪会将高于 20mg/dL 的任何结果标记为“LH”（线性高）。如果操作员选择了“Re-run”（重新运行）图标，则样本可采用一半（1/2）体积样本再试验。计算再试验的结果，应反映使用较小体积样本的情况。这样可以使 TBIL 试验的可报告范围有效地扩展至 40mg/dL。

运行特性⁹

可报告范围

可报告范围是 0.08-20mg/dL。当使用一半样本（1:1 稀释）时，扩展范围是 0.08-40mg/dL。

不准确度/相关性（CLSI, EP9-A2）

下表列出的数据，是 Medica TBIL 测定用试剂（y）在 EasyRA 分析仪上测定与一种类似的 TBIL 试剂（x）在罗氏（Roche）COBAS MIRA* 分析仪上测定比较所得的结果。下面所示数据，代表 EasyRA 分析仪上单次测定与罗氏（Roche）COBAS MIRA 分析仪上所得两个重复试验平均值比较所得的结果。

样本数	65	样本范围	0.05-19.8mg/dL
斜率	1.0043	y 截距	-0.1966
相关系数	0.9957	回归方程：	Y = 1.0043*X - 0.1966

*Cobas Mira 是印第安纳州印第安纳波利斯市 Roche Diagnostics, INC. 的注册商标。

下表列出的数据，是采用 Medica TBIL 测定用试剂在 EasyRA 分析仪上测定匹配的血清（x）和血浆（y）样本比较所得的结果。下面所示数据，代表单次血浆测定与两个重复血清样本平均值比较所得的结果。

样本数	62	样本范围	0.17-16.78 mg/dL
斜率	0.9952	y 截距	-0.0079
相关系数	0.9998	回归方程：	Y = 0.9952*X - 0.0079

非精密度（CLSI, EP5-A2）

三种水平的质控化学品，每种每天均进行两次重复测定，持续进行 20 天。从这些数据确定批内精密度和总精密度。

批内精密度：

QC 水平 mg/dL	批内 SD mg/dL	批内 CV %
3.36	0.02	0.67
1.66	0.02	1.13
0.44	0.01	2.64

总精密度：

QC 水平 mg/dL	总非精密度 SD mg/dL	总非精密度 CV %
3.36	0.05	1.35
1.66	0.03	2.09
0.44	0.02	3.81

线性 (CLSI, EP6-A)⁹

根据线性回归 $Y = 0.98X + 0.0921$, 在 0.08–20mg/dL 范围呈线性。

空白低限 (LOB):	0.04mg/dL	(CLSI, EP17-A)
检测低限 (LOD):	0.06mg/dL	(CLSI, EP17-A)
定量低限 (LoQ):	0.05mg/dL	(CLSI, EP17-A)

干扰物质 (CLSI, EP7-A)

将低于 10% 的干扰分类为 “不显著干扰”。

血红蛋白水平高于 125mg/dL, 则有显著干扰。

甘油三酯可能有显著干扰。不要使用脂血症的样本。

吲哚菁绿则有显著正向干扰。

免疫球蛋白 M (IgM) 水平升高的样本或 Waldenström 巨球蛋白血症患者的样本可能会产生不可靠的结果。

Young (杨) 提供了干扰临床化学试验的药物和其它化学品的列表⁷。

参考文献

1. Malloy H.T. and Evelyn, K.A., *The Determination of Bilirubin with the Photoelectro Colorimeter.*, J.Biol. Chem 119:481–490 (1973).
2. Jendrassik, L and Grof.P. *Vereinfachte, Photometrische Methoden zur Bestimmung des Blubilirubins*, Biochem. A. 297: 81–89 (1938).
3. Walters, M. and Gerarde, H. *An Ultramicromethod for the Determination of Conjugated and Total Bilirubin in Serum or Plasma*. Microchem. J. 15:231–243 (1970).
4. Winsten, J. and Gehelyk, B., *A Rapid Micro Diazo Technique for Measuring Total Bilirubin.*, Clin. Chem. Acta 25: 441–446 (1969).
5. Henry, R.J. *Clinical Chemistry, Principles and Technics*, Hagerstown, MD: Harper and Row, Publishers 1974:1058.
6. Tietz NW. *Textbook of Clinical Chemistry*, WB Saunders and Co., Philadelphia, PA, 1986: p1388.
7. Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests* 4th ed. Washington, DC: AACC Press; 1995.
8. Young DS. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*. 2nd ed. Washington, DC. AACC Press; 1997.
9. Medica 公司档案资料。
10. Burtis, C.A. and Ashwood, E.R. (Eds), *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd edition, W.B. Saunders Co., Philadelphia (1994)
11. NCCLS EP9–P
12. National Committee for Clinical Laboratory Standards, *User Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices* (NCCLS) Document EP5–T2 (ISBN 1–56238–145–8), 1992.

EasyRA 测定参数 (TBIL)

主波长 (nm)	550
次波长 (nm)	600
反应类型	终点 (2)
反应导向	增加
空白试剂	是 (每次校准)
空白样本	是
反应时间	5.6 分钟
校准间隔时间 (最大)	7 日
试剂在分析仪上稳定性期限	28 日

血清/血浆

样本体积 (μL)	8.0
稀释剂 1 体积 (μL)	15
稀释剂 2 体积 (μL)	15
R1 试剂体积 (μL)	150
R2 试剂体积 (μL)	38
小数位数 (默认值)	2
单位 (默认值)	mg/dL
稀释因子	1:1 (扩展测定范围)
线性	0.08-20mg/dL



Medica Corporation, 5 Oak Park Drive
Bedford, Massachusetts 01730-1413 USA



Emergo Europe, Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem, The Netherlands