

REF 10212-4 4 x 29 mL / 8 mL

直接胆红素 (DBIL)

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 DBIL 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和血浆中直接胆红素的定量测定。胆红素的测定用于诊断和治疗肝病、溶血病、血液病和代谢紊乱，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。Ehrlich¹ 说明的标准方法涉及胆红素与一种重氮试剂（如重氮化磺胺酸），生成一种有色化合物偶氮胆红素。这种分析测定直接（结合型）胆红素，是基于它在氨基磺酸存在下与一种重氮盐结合形成偶氮胆红素。

方法的原理

这个终点反应是采用 2,4-二氯苯基重氮盐作为重氮试剂。

直接胆红素 + 2,4-二氯苯基重氮盐 → 偶氮胆红素盐

直接胆红素（结合型）与重氮试剂结合形成偶氮胆红素。在 550nm 处测定的吸收度增加，与直接胆红素浓度成正比。

试剂

DBIL 试剂 (R1) :

EDTA-Na ₂	0.1 mmol/L
NaCl	154 mmol/L
氨基磺酸	100 mmol/L

DBIL 试剂 (R2) :

2,4-二氯苯基重氮盐	5 mmol/L
HCl	0.9 mol/L
EDTA-Na ₂	0.13 mmol/L

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. 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²。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，在 2 - 8°C 下样本可贮藏达 3 日。样本也可在 -70°C 下贮藏 3 个月。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 DBIL 试剂，REF 10212

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 30 日）是稳定的。

注：在除去楔形瓶的盖子，将楔形瓶放在 EasyRA 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 30 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，EasyRA 分析仪将样本校正后吸收度（减去空白试剂和空白样本的吸收度）与校准品类似校正后吸收度（减去空白试剂和空白样本的吸收度）的比值乘以校准品的浓度，得出直接胆红素浓度。

$$\text{DBIL (mg/dL)} = \frac{[(A_{U_{550}} - A_{U_{700}}) - (A_{\text{RBIk}_{550}} - A_{\text{RBIk}_{700}})] - [(A_{U_{550}} - A_{U_{700}}) \text{SBIk} - (A_{\text{RBIk}_{550}} - A_{\text{RBIk}_{700}}) \text{SBIk}] \times \text{dF}}{[(A_{C_{550}} - A_{C_{700}}) - (A_{\text{RBIk}_{550}} - A_{\text{RBIk}_{700}})] - [(A_{C_{550}} - A_{C_{700}}) \text{SBIk} - (A_{\text{RBIk}_{550}} - A_{\text{RBIk}_{700}}) \text{SBIk}] \times \text{dF}} \times \text{CalValue}$$

其中， A_U 是未知样本的吸收度； A_{RBIk} 是与未知样本有关的空白试剂吸收度； SBIk 是与未知样本有关的空白样本的吸收度。具有下标“C”的所有吸收度均与校准品有关。由于延迟加入 R2 试剂的影响，计算中纳入了一个稀释校正因子 (dF)。

预期值³

血清中 DBIL 的参考范围如下：

成人：0.0–0.20 mg/dL (0.0–3.4 $\mu\text{mol/L}$)

这些值仅是指南。建议每个实验室建立其本身的预期值范围，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 10 mg/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 DBIL 试验的可报告范围扩展至 20 mg/dL。

运行特性⁴

可报告范围

可报告范围是 0.06-10 mg/dL。当使用一半样本（1:1 稀释）时，扩展范围是 0.06-20 mg/dL。

不准确度/相关性 (CLSI, EP9-A2)

下表列出的数据，是 Medica DBIL 测定用试剂 (y) 在 EasyRA 分析仪上通过主波长 550nm 和次波长 700nm 测定与相同的 DBIL 试剂 (x) 在 EasyRA 分析仪上仅通过主波长 550nm 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 EasyRA 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	53	样本范围	0.06-9.50 mg/dL
斜率	1.0376	y 截距	-0.0456
相关系数	0.9986	回归方程	$Y = 1.0376 \cdot X - 0.0456$

下表列出的数据，是采用 Medica DBIL 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	52	样本范围	0.07-9.95 mg/dL
斜率	1.0064	y 截距	0.01
相关系数	0.9992	回归方程	$Y = 1.0064 * X - 0.01$

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	批内 SD	批内 CV
mg/dL	mg/dL	%
2.47	0.04	1.59
1.31	0.02	1.83
0.20	0.01	5.49

总精密度：

QC 水平	总非精密度 SD	总非精密度 CV
mg/dL	mg/dL	%
2.47	0.05	2.09
1.31	0.02	1.87
0.20	0.01	6.93

线性 (CLSI, EP6-A)

根据线性回归 $Y = 0.98 * X + 0.0365$ ，在 0.06 -10 mg/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”。

血红蛋白则有显著负向干扰。**应使用**未发生溶血的血清或血浆样本。

DBIL 为 2.55 mg/dL 时，甘油三酯水平达 460 mg/dL (采用 Intralipid* 法)，没有发现显著干扰。Medica 建议不要使用出现混浊的样本。呋喃菁则有显著正向干扰。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。

*Intralipid 是北卡罗来纳州克莱顿市 Pharmacia AB 公司的注册商标。

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^{5,6}。

参考文献

1. Ehrlich, P., *Sulfadiazobenzol, ein Reagens auf Bilirubin*. Centr. Klin. Med. 4; 721-723 (1883).
2. Gordon, E.R., *The Conjugate of Bilirubin*. *Hepatology* (NY) 2: 19 (1975).
3. Burtis, C.A. and Ashwood, E.R. (Eds), *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd edition, W.B. Saunders Co., Philadelphia (1994).
4. Medica 公司档案资料。
5. Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests* 4th ed. Washington, DC: AACC Press; 1995.
6. Young DS. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*. 2nd ed. Washington, DC. AACC Press; 1997.

EasyRA 测定参数 (DBIL)

主波长 (nm)	550
次波长 (nm)	700
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	4.5 分钟
校准间隔时间 (最大)	28 日
试剂在分析仪上稳定性期限	30 日

血清/血浆

样本体积 (μL)	10.0
稀释剂 1 体积 (μL)	10
稀释剂 2 体积 (μL)	10
R1 试剂体积 (μL)	160
R2 试剂体积 (μL)	40
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	0.06-10 mg/dL