

总胆红素(TBIL)含量

规格：微量法 96 样

编号：TBIL-W96-N(1720)

检测原理：亚硝酸钠氧化法

检测波长：450nm

注 意：

- 1、正式测定前务必取 3 - 5 个预期差异较大的样本做预测定；
- 2、为了您的安全和健康，请佩戴好防护用具；

测定意义：

总胆红素 (Total Bilirubin, TBIL) 是直接胆红素和间接胆红素的总和。肝脏对胆红素的代谢起着重要作用。

测定原理：

在 PH 值约为 2.9 时，亚硝酸钠可将胆红素氧化为胆绿素，在表面活性剂 Triton-X100 存在下，游离胆红素和结合胆红素（直接胆红素）均会发生氧化，其在 450nm 处吸光度的减少与总胆红素浓度成正比。

自备仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、可调式移液器、离心机、蒸馏水。

试剂清单：

试剂名称	规格	数目	贮藏	
试剂一	液体 28mL	x1	4℃	
试剂二	液体 7mL	x1	4℃	
标准品	液体 500μL	x1	-20℃,避光	171μmol/L 标准溶液

样品要求:

一、液体样本

澄清的液体可直接检测，若浑浊则离心后取上清液检测

注意:

- 1、由于胆红素在被日光或紫外线照射后会发生光氧化，因此采样时操作应当迅速，注意避光；
- 2、样本-70℃避光保存条件下，最多保存 3 个月；

实验准备:

- 1、酶标仪预热 30min 以上，设置温度在 37℃，调节波长至 450nm；
- 2、试剂一、试剂二 解冻至室温；
- 3、标准品低温解冻，冰上放置；

标准品 4℃避光最多保存 1 周；

建议根据每次使用量 分装后 -20℃冻存（不可反复冻融），按需取用后放置于 4℃解冻；

测定操作：

- 1、根据实验需要 可选择使用蒸馏水稀释标准品浓度，稀释后的标准品浓度代入公式计算（标准品稀释建议现用现配，或者当天使用）
- 2、暗光环境，在 96 孔板中依次操作

试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (只做一管)	标准管 (只做一管)
样本	10	-	-
蒸馏水	-	10	-
标准品	-	-	10
试剂一	230	230	230
混匀，37℃避光反应 5min 后，于 450nm 测定吸光值 A（记作 A1）			
试剂二	60	60	60
混匀，37℃避光反应 5min 后，于 450nm 测定吸光值 A（记作 A2） $\Delta A = A1 - A2$			

注意：

- 1、胆红素见光易分解，操作过程注意避光；
- 2、酶标仪检测时注意观察 96 孔板 孔内不要有气泡；
- 3、若 ΔA 值小于 0.005，可适当增加样本加样体积，并相应减少试剂一加样体积；可参考以下方法改变加样体系：

试剂名称 (μL)	测定管	空白管	标准管
样本	20	-	-
蒸馏水	-	20	10
标准品	-	-	10
试剂一	220	220	220

试剂二不变，改变后的 V1 代入公式重新计算

结果计算：

(1) 按照体积计算

$$\begin{aligned}\text{总胆红素含量}(\mu\text{mol/L}) &= (C \times V_2) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div V_1 \times D \\ &= C \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \times D\end{aligned}$$

C: 标准品浓度, 171 $\mu\text{mol/L}$;

V2: 加入标准品体积, 0.01mL;

V1: 加入样本体积, 0.01mL;

D: 额外稀释倍数, 未稀释即为 1;

预实验的意义：

比色法检测试剂盒预实验非常重要

- 1、确定该试剂盒是否适合客户的样本检测，以免造成试剂盒和样本的浪费（比如低表达处理的样本）；
- 2、熟悉生化试剂盒的操作流程，尤其是初次使用生化试剂盒测定；
- 3、确定样本的处理方法及稀释倍数是否合适；
- 4、了解实验过程中可能出现的实验现象或问题，以便于及时作出调整；
- 5、通过 3 - 5 组预实验，判断试剂盒对于样本的最佳适应稀释浓度范围，指导实验样本稀释比例。