

直接胆红素检测试剂盒（重氮盐法）

Direct Bilirubin Assay Kit (J-G)

货号	产品名称	规格
E2061	Direct Bilirubin Assay Kit	100T

产品简介

直接胆红素检测试剂盒（Total Bilirubin and Direct Bilirubin Assay Kit）是一种特异灵敏的检测直接胆红素（Direct Bilirubin）浓度的试剂盒。胆红素是由血色素代谢形成的黄色物质，血色素被水解为胆绿素，然后再被胆绿素还原酶代谢为非结合胆红素，又被称为胆红素或间接胆红素。非结合胆红素与白蛋白结合运输到肝脏，在肝脏发生葡萄糖醛酸化修饰称为结合胆红素，又被称为直接胆红素。溶血和肝脏疾病会导致血液中间接胆红素升高，肝炎、肝硬化和胆汁淤积等肝脏疾病会导致血液中直接胆红素升高。

本试剂盒利用重氮盐与直接胆红素反应生成偶氮胆红素，偶氮胆红素能够特异吸收 525nm 波长可见光，从而通过测定 525nm 吸光度定量检测直接胆红素浓度。

本试剂盒具有良好的检测线性，检测直接胆红素的线性范围为 3.125-100 μM ，灵敏度 \leq 3.125 μM 。

本试剂盒适用于检测各种动物血清样品中直接胆红素含量。

试剂盒组成

组份编号	组份名称	规格	数量	储存
E2061-1	Reagent 1 (R1)	8 ml/瓶	1	-20°C
E2061-2	Reagent 2 (R2)	1 ml/管	1	-20°C
E2061-3	Bilirubin Diluent	20 ml/瓶	1	-20°C
E2061-4	Bilirubin Standard (500 μM)	1 ml/管	1	-20°C
—	说明书	份	1	

需要而未提供的试剂及器材

1. 超纯水
2. 系列可调节量程移液器及吸头
3. 离心管及 96 孔板
4. 酶标仪

储存条件

冰袋运输，收到试剂盒后置于-20°C储存，有效期 12 个月。

注意事项

1. 重氮盐试剂在每次测定前新鲜配制。

2. 每次测定时利用标准品制作标准曲线。
3. 本产品仅限专业人员用于科学研究，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
4. 胆红素见光易分解，测定时应尽快且尽量避免光。
5. 样品测定时常见样品孔与样品对照孔相近，这是样本胆红素含量极低的表现。
6. 样本与试剂量可根据需要按比例调节；不同批次试剂不可混合使用。
7. 若仪器没有试剂盒所要求波长，请选择接近波长。

测定前准备

1. 样本的准备

血清样品的准备：取新鲜血液，室温凝固 30 分钟，4°C、2000 g 离心 15 分钟，上清为血清。如果不立即进行测定，将样品储存在-80°C冰箱。

样品要求：血清样品无溶血现象。有些抗凝剂影响胆红素含量测定，不建议使用血浆样品。

2. 标准品的准备

在 1.5 ml 离心管中，加入 400 μ l Bilirubin Diluent，然后加入 100 μ l 的 500 μ M Bilirubin Standard，获得含 100 μ M 直接胆红素标准品。然后取 5 根 1.5 ml 离心管中，加入 200 μ l 的 Bilirubin Diluent，再吸取 200 μ l 的 Bilirubin Standard 依次倍倍稀释为 50、25、12.5、6.25、3.125 μ M 浓度直接胆红素标准品。

3. 试剂盒的准备

重氮盐试剂及其对照溶液的配制：测定直接胆红素每个样本均参考下表配制重氮盐试剂及其对照溶液，在实验前按以下顺序加入各种试剂后混匀。

	重氮盐对照溶液	重氮盐试剂
Reagent 1 (R1)	20 μ l	20 μ l
Reagent 2 (R2)	—	5 μ l
纯水	5 μ l	—

测定方法

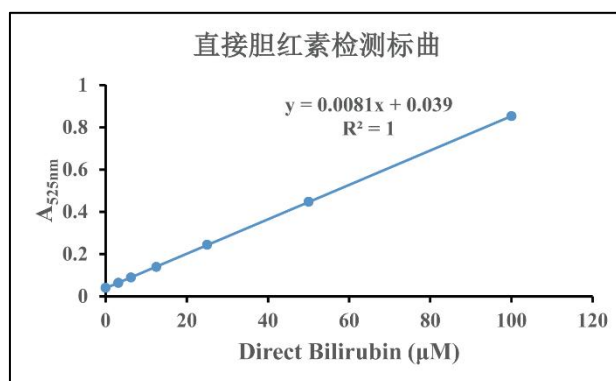
直接胆红素测定：参考下表，使用透明 96 孔板，依次加入纯水、Bilirubin Diluent、Bilirubin Standard 或样品，然后加入重氮盐试剂或重氮盐对照溶液，混匀，室温孵育 5 min；利用酶标仪测定 525nm 波长的吸光度，如果样品中直接胆红素浓度偏高，可以将样品适当稀释后测定。

	空白对照孔	标准曲线孔	样品对照孔	样品孔
纯水	125 μ l	125 μ l	125 μ l	125 μ l
Bilirubin Diluent	100 μ l	50 μ l	50 μ l	50 μ l
Bilirubin Standard	—	50 μ l	—	—
样品	—	—	50 μ l	50 μ l
重氮盐对照溶液	—	—	25 μ l	—

重氮盐试剂	25 μ l	25 μ l	—	25 μ l
室温孵育	5 min	5 min	5 min	5 min

数据处理

利用直接胆红素标准品浓度为横坐标，525nm 波长的吸光度值为纵坐标制作标准曲线，并获得横纵坐标之间的函数关系式，然后将各样品 525nm 波长吸光度值减去样品对照吸光度值获得真实吸光度值，利用标准曲线和各样品真实吸光度值计算样品中直接胆红素浓度。直接胆红素标曲测定如下图所示：



参考文献

1. Xu C., Dong M., Deng Y., et al. Relation of direct, indirect, and total bilirubin to adverse long-term outcomes among patients with acute coronary syndrome. *Am. J. Cardiol.* 2019; 123 (8): 1244-1248.
2. Duque Alcorta M., Chanca Alvarez P., Nuñez Cabetas P., et al. Assessment of the fundamental accuracy of the Jendrassik-Gróf total and direct bilirubin assays. *Clin. Chem.* 1983; 29 (1): 31-36.