

尿素(Urea)检测试剂盒(脲酶波氏比色法)说明书

本产品仅供体外研究使用,不得用于临床诊断

产品简介:

尿素(Urea)又称碳酰胺(carbamide),是哺乳动物和某些鱼类体内蛋白质代谢分解的主要含氮 终产物,也是目前含氮量最高的氮肥:尿素检测方法大致分为化学方法和酶学方法,后者被 认为是间接方法,先经尿素酶(脲酶)分解尿素为铵离子,然后根据波氏反应检测铵离子的生成量。

尿素(Urea)检测试剂盒(脲酶波氏比色法)检测原理是尿素酶水解尿素,产生氨和二氧化碳,氨在碱性条件下与苯酚等反应生成蓝色吲哚酚,吲哚酚的生成量与尿素含量呈正比,通过分光光度计测定 560nm 处吸光度,可用于测定人体、动物的血浆、血清、尿液等样品中的尿素(旧称尿素氮,BUN)含量,但尿液最好经过处理后再行检测。该试剂盒仅用于科研领域,不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

名称	规格	保存条件
尿素(Urea)检测试剂盒(脲酶波氏比色法)	100T	4℃
试剂(A):尿素标准(100mmol/L)	1ml	4℃避光
试剂(B):脲酶溶液	0.5ml	-20℃避光
试剂(C):脲酶稀释液	25ml	4℃
试剂(D):Urea 显色液	100ml	4℃避光
试剂(E):UreaAssayBuffer	100ml	4℃避光
试剂(F):ddH2O	10ml	RT
使用说明书	1 份	
有效期	6 个月	

自备材料:

- 1、水浴锅或恒温箱、离心管或小试管
- 2、分光光度计、比色杯
- 3、无氨蒸馏水、沸石

操作步骤(仅供参考):



1、准备样品:

①血浆、血清: 血浆、血清按照常规方法制备,直接用于尿素的测定,-20℃冻存。②尿液: 尿液样品最好处理后测定,方法如下: 取 0.6ml 尿液样品,加入沸石 0.3g,加入无氨蒸馏水至 15ml,反复震荡数次,吸附尿液中的游离铵盐,静置后,吸取稀释尿液,

所测结果乘以 25,如果尿液比较少,可以等比例减少各试剂的使用量。举例:取 1ml 尿液样品,应加入沸石 0.5g,加入无氨蒸馏水至 25ml,反复震荡数次,吸附尿液中的游离铵盐,静置后,吸取稀释尿液,所测结果乘以 25。

- 2、配制标准品工作液:取适量的尿素标准(100mmol/L),按尿素标准(100mmol/L):ddH2O=1:19的比例混合,使尿素浓度达到5mmol/L,即为标准品工作液-尿素标准(5mmol/L);4 $^{\circ}$ C保存,1周有效。
- 3、配制脲酶工作液: 取适量的脲酶溶液, 按脲酶溶液: 脲酶稀释液=1: 99 的比例混合, 即为脲酶工作液; 4℃避光保存, 1个月有效。
- 4、Urea 加样:按照下表设置空白管、标准管、测定管,溶液应按照顺序依次加入,并注意避免产生气泡;如果样品中的 Urea 浓度过高,可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定。

加入物(ml)	空白管	标准管	测定管
ddH2O	0.01		
尿素标准(5mmol/L)		0.01	_
待测样品	_	_	0.01
脲酶工作液	0.2	0.2	0.2
充分混匀, 37℃ 水浴 15 min。			
酚显色液	1	1	1
UreaAssayBuffer	1	1	1

5、Urea 测定: 充分混匀, 37℃水浴 20min, 分光光度计检测 560nm 处吸光度, 比色杯光径 1.0cm, 空白管调零, 读取各管吸光度, 分别为 A 标准、A 测定。

计算:

尿素(mmol/L)=(A 测定/A 标准)×5mmol/L 式中: A 测定=测定管的吸光度 A 标准=标准管的吸光度

参考区间:

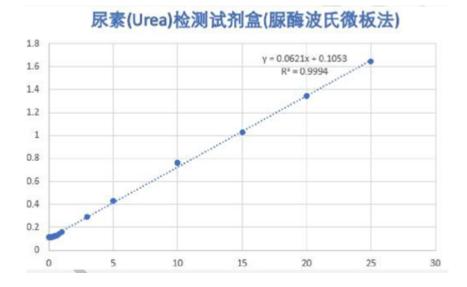


成年人血清尿素 2.9~8.2mmol/L

注意事项:

- 1、本实验可测定 560 和 630nm 处的吸光度。
- 2、如果没有分光光度计,也可以使用酶标仪测定,但应注意加入试剂量不同,相应的检测 次数会大大增加。
- 3、避免使用铵盐抗凝剂,否则会使结果偏高。
- 4、高浓度氟化物可抑制尿素酶,引起结果假性偏低。
- 5、采用酶标仪未调零情况下,空白管 OD 值一般在 0.08~0.18 之间,5mmol/L 标准管参考范围一般在 0.35~0.55 之间。
- 6、以肉眼观察,一般情况下尿素浓度≤1mmol/L 可显淡绿色或淡蓝色,浓度≥2mmol/L 即可显蓝色,浓度≥15mmol/L 即可显深蓝色,一般情况下接近上限比接近下限更准确。
- 7、为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作。

附录: 参考标准曲线范围:根据说明书操作步骤采用酶标仪 570nm 测定尿素标准在 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1、3、5、10、15、20、25mmol/L 时的吸光度,据此作出其标准曲线如下:



注意: 由于试剂批次、仪器设备、操作方法及工作环境等不同,参考范围会有差异,该值仅供参考,对于要求精确计算尿素含量的,可以采用标准曲线进行多点测定; 根据测定经验显示,标准品浓度小于 0.2mmol/L 或大于 30mmol/L,标准曲线会有偏差。

