

尿素(Urea)检测试剂盒(脲酶波氏微板法)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(脲酶波氏微板法)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吡啶酚，吡啶酚的生成量与尿素含量呈正比，通过酶标仪测定 560nm 处吸光度，该试剂盒可用于测定人体、动物的血浆、血清、尿液等样品中尿素(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(脲酶波氏微板法)	100T	4℃避光
试剂(A):尿素标准(100mmol/L)	1ml	4℃避光
试剂(B):脲酶溶液	0.2ml	-20℃避光
试剂(C):脲酶稀释液	3ml	4℃
试剂(D):Urea 显色液	10ml	4℃避光
试剂(E):UreaAssayBuffer	10ml	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、酶标仪、96 孔板
- 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，直接用于该试剂盒的测定，-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。如果取 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℃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 月有效。

4、Urea 加样：按照下表设置空白孔、标准孔、测定孔，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(μl)	空白孔	标准孔	测定孔
ddH ₂ O	1	—	—
尿素标准(5mmol/L)	—	1	—
待测样品	—	—	1
脲酶工作液	20	20	20
充分混匀，37℃水浴 15min。			
酚显色液	100	100	100
UreaAssayBuffer	100	100	100

5、Urea 测定：充分混匀，37℃水浴 20min，酶标仪测定 560nm 处吸光度，空白孔调零，读取各孔吸光度，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=测定孔的吸光度

A 标准=标准孔的吸光度

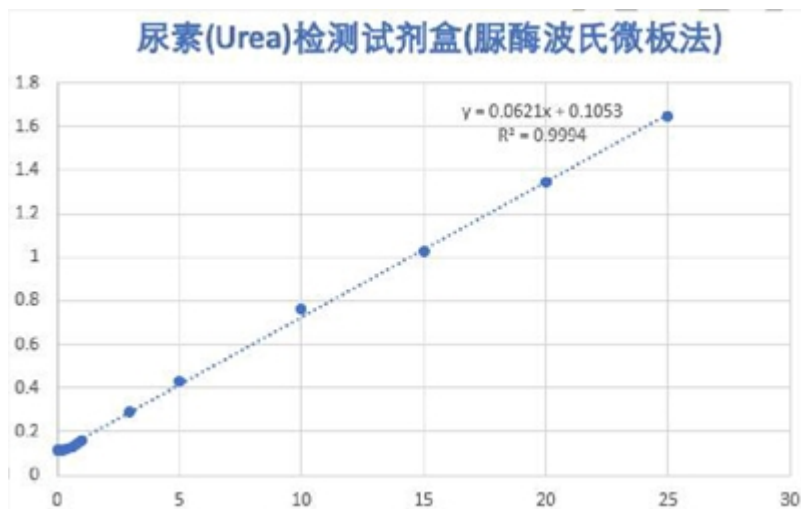
参考区间：

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、如果没有酶标仪，也可用分光光度计测定，但应注意加入试剂量不同，相应的检测次数会大大减少。
- 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 $\leq 1\text{mmol/L}$ 可显淡绿色或淡蓝色，浓度 $\geq 2\text{mmol/L}$ 即可显蓝色，浓度 $\geq 15\text{mmol/L}$ 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。

