

ICS 11.020
C 50

WS

中华人民共和国卫生行业标准

WS/T 345—2011

WS/T 345—2011

血清尿素测定参考方法

Reference procedure of the measurement of urea in serum

中华人民共和国卫生
行业标准
血清尿素测定参考方法
WS/T 345—2011

*

中国标准出版社出版发行
北京复兴门外三里河北街16号
邮政编码:100045

网址 www.spc.net.cn

电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 1.75 字数 43 千字
2011年10月第一版 2011年10月第一次印刷

*

书号: 155066·2-22243 定价 27.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换

版权专有 侵权必究

举报电话:(010)68533533



WS/T 345-2011

2011-09-30 发布

2012-04-01 实施

中华人民共和国卫生部 发布

表 B.3 脲酶稀释液催化活性浓度测定步骤

反应液	2.000 mL
平衡到 30 °C	
步骤 B.1.1.7.2 脲酶溶液	0.500 mL
充分混匀,孵育 90 s。再连续监测 120 s 的吸光度。	

B.3.3 试剂空白

采用 $9 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ($154 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 氯化钠溶液代替脲酶溶液测定试剂空白,按上述步骤进行操作。

B.4 结果计算

通过回归分析(最小二乘法)计算吸光度随时间的改变 [$\text{s}^{-1} (\text{min}^{-1})$]。减去试剂空白率后,即 GLDH 储存液稀释液的吸光度变化率。按公式(B.1)计算储存酶溶液中脲酶催化活性浓度:

$$U_{\text{stock}} = F \times F_{\text{dilution}} \times (\Delta A / \Delta t)_{\text{U}} \quad \dots\dots\dots (\text{B.1})$$

注:此公式仅适用于按上述方法稀释与测定脲酶催化活性浓度。

式中:

U_{stock} ——酶原液中脲酶催化活性浓度,单位为微凯塔尔每升($\mu\text{kat} \cdot \text{L}^{-1}$)或单位每升($\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$);

注:单位 $\mu\text{kat} \cdot \text{L}^{-1}$ 除以 1 000 可得 $\text{mkat} \cdot \text{L}^{-1}$,单位 $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$ 除以 1 000 可得 $\text{kU} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

F ——系数,等于 794(在 339 nm 波长测定, $\epsilon_{339}(\text{NADH}) = 630 \text{ m}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$,为 IFCC 与 IRMM 推荐);

F_{dilution} ——脲酶储存液的稀释因子,B.1.1.7.2 中为 196;

$(\Delta A / \Delta t)_{\text{U}}$ ——测定样品的实际吸光度变化率,单位为每秒(s^{-1})或每分(min^{-1})。

目 次

前言 III

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 术语和缩略语 1

4 测定原理 3

5 测定样品 3

6 测定试剂 3

6.1 警示与安全注意事项 3

6.2 试剂原料 3

6.3 试剂性能要求 3

6.4 试剂制备 4

6.5 标准液的制备 6

7 测定条件 7

7.1 仪器 7

7.2 最终反应混合液的浓度 10

7.3 血清尿素测定条件 11

7.4 校准的扩展不确定度 11

8 测定 11

8.1 无蛋白滤液的制备 11

8.2 试剂准备 12

8.3 标准曲线制作 12

8.4 测定方法 12

8.5 测定范围 13

8.6 误差的来源 13

8.7 测定样品要求 13

9 结果计算 13

9.1 计算实际吸光度值 13

9.2 标准曲线的制作 13

9.3 样品测定结果的计算 14

9.4 单位换算 14

附录 A (规范性附录) L-谷氨酸脱氢酶催化活性浓度测定 15

附录 B (规范性附录) 脲酶催化活性浓度测定 18

附录 B
(规范性附录)
脲酶催化活性浓度测定

B.1 测定试剂**B.1.1 试剂制备****B.1.1.1 125 mmol·L⁻¹的 Tris-HCl**

准确称取 1.970 g Tris-HCl,放入烧杯内,用 80 mL 无氨水溶解后转移至 100 mL 容量瓶内,用无氨水补足至刻度线。密闭试剂瓶 2℃~8℃保存。稳定 2 周。

B.1.1.2 125 mmol·L⁻¹ Tris-Base

准确称取 1.514 3 g Tris-Base,放入烧杯内,用 80 mL 试剂水溶解后转移至 100 mL 容量瓶内,用试剂水补足至刻度线。密闭试剂瓶 2℃~8℃保存。稳定 2 周。

B.1.1.3 pH7.8, 125 mmol·L⁻¹ Tris-HCl 缓冲液

100 mL 的 125 mmol·L⁻¹ Tris-HCl 倒入烧杯内,用 125 mmol·L⁻¹ Tris-Base 调节 pH 值至 7.8。密闭试剂瓶 2℃~8℃保存。稳定 2 周。

B.1.1.4 溶液 B

准确称取 0.084 8 g α-酮戊二酸、0.008 9 g NADH、0.093 1 g EDTA、0.062 7 g ADP、0.375 3 g Urea 分别用 5 mL pH 7.8、125 mmol·L⁻¹ Tris-HCl 缓冲液溶解后转移至 50 mL 容量瓶中,用 Tris-HCl 缓冲液充分冲洗烧杯,使溶解成分全部转移至容量瓶中,用 Tris-HCl 缓冲液补足至刻度线。密闭试剂瓶 2℃~8℃保存,稳定 2 d。

B.1.1.5 反应试剂

采用称量法依据 L-谷氨酸脱氢酶厂家测定的含量获得总活性为 937 U L-谷氨酸脱氢酶,用溶液 B 充分溶解后转移至 25 mL 容量瓶中,用溶液 B 充分冲洗烧杯,使溶解成分全部转移至容量瓶中,用溶液 B 补足至刻度线。密闭试剂瓶 2℃~8℃保存,稳定 2 d。

B.1.1.6 4 200 U·L⁻¹脲酶溶液

采用称量法依据脲酶厂家声明的含量获得总活性为 8.4 U 脲酶,放入烧杯内,用 2 mL 0.2%牛血清白蛋白溶液完全溶解。密闭试剂瓶 2℃~8℃保存。稳定 1 d。

B.1.1.7 脲酶原液的稀释(使用前进行)示例

B.1.1.7.1 在 1.3 mL 0.2%牛血清白蛋白溶液中加入 0.1 mL 脲酶原液,充分混匀。第一步的稀释比例是 1:14。

B.1.1.7.2 将步骤 B.1.1.7.1 中的 0.1 mL 最终溶液加入到 1.3 mL 0.2%牛血清白蛋白溶液中,充分混匀。第二步的稀释比例是 1:14。第一步和第二步总稀释比例是 1:196。

前 言

本标准修改采用由国际检验医学溯源联合委员会(JCTLM)批准的《CDC 人血清尿素参考方法(分光光度法)》,并参考 ISO 15193:2009《体外诊断器具 生物源样品中量的测定 参考测定程序的表述》适当增加内容。

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由卫生部临床检验标准专业委员会提出。

本标准起草单位:卫生部临床检验中心。

本标准主要起草人:杨振华、陈宝荣、邵燕、陈琦、孙慧颖、胡滨。