

肌酐 (Cr) (苦味酸法) 含量

<编号: CR-W96S-N(1620) 微量法 100 管/96 样>

注 意: 正式测定前务必取 3 - 5 个预期差异较大的样本做预测定

测定意义:

肌酐是在肌肉中从磷酸肌酸通过自发和不可逆转化而形成的, 除非肌肉质量有大的变化, 通常情况所形成的肌酐量是相当恒定的。游离肌酐的循环量完全依赖于它的排泄速度, 从而测定尿液, 血清或血浆中的肌酐量, 可用于肾功能检查。肌酐含量的增高常见于:慢性肾衰竭时排泄量的减少及肢端肥大症。

测定原理:

肌酐与过量苦味酸在碱性条件下反应生成橙红色苦味酸肌酐。在波长 490 nm 处有最大吸收峰, 在一定的时间内测定该复合物, 即可计算出样本中肌酐的含量, 并可避免干扰。



自备仪器和用品:

紫外分光光度计/酶标仪、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、微量石英比色皿/96 孔板。

试剂组成和配制:

试剂一: 液体×1 瓶, 4°C保存, 临用前过滤。

试剂二: 液体×1 瓶, 4°C保存。

试剂三: 10x 标准液×1 瓶, 4°C保存, 临用前, 蒸馏水 10 倍稀释为 1x 标准液, 终浓度为 0.1 mg/ml。

***工作液:** 试剂二: 试剂一 = 1: 10, 临用前配置, 用多少配多少。

样本收集:

1. **血清, 血浆:** 血清或血浆中的肌酐在 2-8°C下可保存 24 小时。
2. **尿液:** 试验前将新鲜尿液用蒸馏水作 1/50 稀释, 测定结果乘以 50。

测定操作:

1. 分光光度计或酶标仪预热 30 min, 调节波长到 490 nm, 蒸馏水调零。
2. 按下表添加样本试剂, 充分混匀, 选择波长 490nm, 迅速上机, 以空白管校零读取起始吸光度(A1), 90 秒钟后读取终末吸光度(A2)

备注:可根据使用仪器的不同, 恒比例改变试剂与样本的量。

注意: 空白管只需要做一次。

试剂名称 (μL)	样本管	空白管	标准管
样本	50		
试剂三 1x			50
蒸馏水		50	
工作液	200	200	200

计算公式:

$$\text{肌酐(mg/mL)} = \frac{\text{样本管吸光度 A2} - \text{样本管吸光度 A1}}{\text{校准管吸光度 A2} - \text{校准管吸光度 A1}} \times \text{标准液浓度}$$

注意事项:

1 本方法的最低检出浓度为 0.03 g/L(取样体积为 0.1 mL)、线性范围为 0~1.0 g/L $r = 0.9995$, 精密度: 相对标准偏差为 0.38%~2.2%(浓度为 0.2~1.0 g/L, $n = 6$), 准确度: 尿样加标平均回收率为 93%~105% (肌酐浓度为 0.35~0.57 g/L $n = 6$)。本法测定中的最小取样量为 50 μ L。

2 尿样中含有 0.1mg/L 的镍、汞、硒、钒, 0.2mg/L 的铬, 0.3mg/L 的杀虫脒, 0.4mg/L 的镉、对硝基酚, 0.6mg/L 的铅、砷, 1mg/L 的马尿酸及甲基马尿酸, 16mg/L 的 2-硫代噻唑烷-4-羧酸, 2mg/L 的氟, 3mg/L 的酚, 100mg/L 的三氯乙酸, 400mg/L 的扁桃酸, 1000mg/L 的苯乙醛酸, 不干扰测定。

3 反应温度、苦味酸纯度及其浓度、氢氧化钠浓度均对测定值有影响。反应温度必须控制在 30 $^{\circ}$ C 以下。从最先开始测定至最后一个样品结束, 整个比色过程必须控制在 30min 内完成。

4 血红蛋白(0.1/L), 胆红素(10mg/dL), 前体及蛋白质均不干扰反应, 但高浓度的还原物质会影响测定结果。

5 本产品在岛津-UV1601PC 型仪器上通过第三方检测, 用于其他仪器需进行验证。

6 中华人民共和国卫生行业标准 尿中肌酐分光光度测定方法

(Urine-Determination of creatinine -Spectrophotometric method)

WS/T 97 - 1996

参考文献;

1.Fabiny DLetal.ClinChem1971:17:696

2.Young DS,etal.ClinChem1975:21:286-288

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。