**尿素氮（BUN）检测报告含量测定试剂盒说明书（货号：PYB2046,规格:96T）**

1. **实验原理：**

 尿素在脲酶的作用下水解产生氨离子和二氧化碳，氨离子在碱性介质中与酚显色剂生成蓝色的物质，该物质的生成量与尿素含量成正比，在640nm波长比色测定。

1. **试剂组份**：

 样本要求：草酸盐、肝素或EDTA抗凝血浆。血浆中尿素氮在室温下可稳定24小时，而在4～6℃至少稳定7天。尿液用生理盐水作1∶10～1∶50稀释后与血浆操作相同。若超出线性范围，须再稀释。

 试剂一：酶贮备液，0.1mL×1支，酶稀释液30mL×1瓶。4℃保存。临用时按照酶贮备液∶酶稀释液=3∶1000配成缓冲酶液，现用现配。

 试剂二：酚显色剂，100mL×1瓶，4℃避光保存。

 试剂三：碱性次氯酸钠，100mL×1瓶，4℃保存。

 试剂四：BUN标准品，恒重的尿素6.006mg粉剂×3支。100mmol/LBUN标准贮备液配制：临用前取1支粉剂加1mL双蒸水配制成100mmol/L标准贮备液，4℃保存。10mmol/LBUN标准应用液配制：将100mmol/L标准贮备液用双蒸水1∶9稀释（即10倍稀释），配制成10mmol/LBUN标准应用液，4℃可保存2～3天。

所需仪器及试剂：

可调 640nm 波长的可见光分光光度计及 1cm 光径比色皿(或酶标仪及 96 孔板)，蒸馏水，涡旋混匀器， 37℃水浴锅或恒温箱，

1. **使用步骤：**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | 空白管 | 标准管 | 测定管 |
| 双蒸水（mL） | 0.02 |  |  |
| 10mmol/LBUN标准应用液（mL） |  | 0.02 |  |
| 待测样本（mL） |  |  | 0.02 |
| 缓冲酶液（mL） | 0.25 | 0.25 | 0.25 |
| 混匀，37℃准确水浴10分钟 |
| 酚显色剂（mL） | 1 | 1 | 1 |
| 碱性次氯酸钠（mL） | 1 | 1 | 1 |
| 充分混匀，37℃水浴10分钟，波长640nm，1cm光径，双蒸水调零，测定各管吸光度OD值 |

****计算公式：

A测定-A空白

尿素氮（BUN）浓度（mmmol）= ×**C标准**×**N**

A标准-A空白

**[**注**]**： **N:**样本测试前稀释倍数；

**C** 标准： 标准液浓度， 10mmol/L（280.1mg/L）。

**注意事项：**

1.颜色太深时，将样品作适当稀释，结果乘以稀释倍数。

2.最好使用一次性塑料试管，防止污染。

3.缓冲酶液现用现配，用多少配多少，应用液不可久置，

酶贮备液粘附性较大，用移液器吸取时应缓慢吸打。

4.加缓冲酶液后，应准确水浴10分钟，所以样本量较多时，应分批操作；同批操作数量控制在15个以内。

5.显色水浴后，呈色4小时内稳定。

6.可用质控品进行质控，但本试剂盒不提供。

7.血清样本因尿素大部分被除去，故而检测结果偏低。

8.本实验可以在试管或者离心管中操作，反应完后取0.2mL反应液加到96孔板中，上酶标仪640nm处读数，计算公式不变。