

尿中肌酐的肌氨酸氧化酶法

1 原理

尿液中的肌酐在肌酐酶的催化作用下水解生成肌酸,随后肌酸在肌酸酶的催化下水解产生肌氨酸和尿素。肌氨酸在肌氨酸氧化酶的催化下氧化成甘氨酸、甲醛和过氧化氢,最后偶联 Trinder 反应形成的醌亚胺色素与肌酐的浓度成正比,可用比色测定。

2 仪器

2.1 尿样收集瓶, 50ml。

2.2 精密分析天平, 感量0.01mg。

2.3 生化分析仪。

2.4 移液管, 1ml、5ml。

2.5 容量瓶, 100ml。

3 试剂

3.1 实验用水: 去离子水。

3.2 肌酐检测试剂盒(肌氨酸氧化酶法): 一般含有肌酸酶和肌氨酸氧化酶等反应酶和 4-氨基安替比林等显色剂。在 $30\mu\text{mol/L}$ ~ $1250\mu\text{mol/L}$ 线性范围内, 试剂的线性相关系数应满足 $r \geq 0.990$ 。

3.3 盐酸溶液 (0.1mol/L): 取 4.2ml 盐酸, 加水稀释至 500ml。

3.4 肌酐 ($\text{C}_4\text{H}_7\text{N}_3\text{O}$), 优级纯。

3.5 肌酐标准贮备溶液 [$\rho(\text{C}_4\text{H}_7\text{N}_3\text{O}) = 10.00\text{g/L}$]: 准确称取 1.00g 肌酐(经 110°C 干燥 2h), 室温下盐酸溶液溶解, 用移液管移入 100ml 容量瓶中, 并用盐酸溶液定容至刻度。该贮备液置于冰箱 4°C 冷藏可稳定保存 3 个月。(其他两个方法, 1.0g/L , 稳定 6 个月)

3.6 肌酐标准应用溶液 [$\rho(\text{C}_4\text{H}_7\text{N}_3\text{O}) = 1.00\text{g/L}$]: 将肌酐标准贮备溶液用纯水稀释至 1.00g/L 。该应用液置于冰箱 4°C 冷藏可稳定保存 1 个月。

4 样品的采集、运输和保存

依据《职业卫生生物监测 总则》进行样品采集。将采集后的尿液在室温下运输。 4°C 条件下保存样品有效期为 14 天。

5 分析步骤

5.1 参数设置

启动生化分析仪, 放置肌酐检测试剂盒, 按照试剂盒说明书相关规定设定反应温度、反应时间和仪器测定参数。

5.2 仪器校正

将肌酐标准应用溶液 [$\rho(\text{C}_4\text{H}_7\text{N}_3\text{O}) = 1.00\text{g/L}$] 按照肌酐检测试剂盒要求, 用水稀释至合适倍数后, 放入生化分析仪进行分析, 得到稀释后肌酐测定浓度 ($\mu\text{mol/L}$)。按式(1)计算校正系数。

$$K = \frac{C \times a \times 113.1}{10^6} \text{-----(1)}$$

式中: K — 校正系数, 无量纲;

C — 肌酐测定浓度, $\mu\text{mol/L}$;

a — 尿液稀释倍数。

5.3 样品测定

将尿样放至室温后，取 1.00ml 尿样并用水稀释，稀释倍数为仪器校正时肌酐标准溶液的稀释倍数，放入生化分析仪进行分析，得稀释后尿样中肌酐的测定浓度(μmol/L)。

6 计算

6.1 按式(2)计算尿中肌酐的浓度：

$$C_{\text{样}} = \frac{C_{\text{测}} \times a \times 113.1}{10^6} \times K \text{-----}(2)$$

式中：C_样 —尿样中肌酐的浓度，g/L；
C_测—尿样中肌酐的测定浓度，μmol/L；
a — 尿样稀释倍数；
K—校正系数。

6.2 按照肌酐或比重校正方法对样品结果进行校正。

7 说明

方法最低检出限为0.03g/L，定量下限为0.1g/L；方法线性范围为0.03g/L~4.23g/L（以尿样30倍稀释计）。方法的批内精密密度范围为1.2%~4.3%（肌酐浓度为0.3g/L~2.2g/L），批间精密密度范围为1.2%~3.5%（肌酐浓度为0.3g/L~2.2g/L）。方法的加标回收率范围为99.0%~105.5%（肌酐浓度为0.3g/L~2.2g/L）。

（深圳宝安区福永街道卫生所 谷素英 深圳宝安区疾病预防控制中心 尹江伟
武汉市职业病防治院 朱丽珊 沈阳市职业病防治院 彭珊苗）