DOI:10.16016/j.1000-5404.1995.04.037



中图法分类号 Q556.5

## 参考文献

1 Stahl WL, Baskin DG. Histochemistry of ATPase. J Histochem Cytochem,1990;38:1099

2 Mayahara H, Fujimoto K, Ando T et al. A new one-step method for the cytochemical localization of ouabain-sensitive potassium-dependent p-nitrophenylphosphatase activity. Histochemistry,1980;67:125

(收稿:1994-06-13;修回:1995-06-16)

# Garbrie Lopez—Castro 尿素比色法改良

# A reform in the Garbrie Lopez—Castro urea colorimetric method

陈 伟 胡 波 石国坤 (第三军医大学附属大坪医院检验科)重庆,630042

Gabrie Lopez—Castro 尿素比色法是检测肾功能的常规指标之一,其原理是在酸性环境和安替比林存在下,尿素能与邻苯二甲醛进行偶合反应,在偏钒酸铵作用下,产生暗蓝色,590 nm 有最大吸收峰。作者对该法加以改良,加用表面活性剂——十六烷基三甲基溴化铵提高了方法的灵敏度。现报道如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂

试剂 I:40 g 安替比林,1.33 g 偏钒酸铵,5 g 十六烷基三甲基溴化铵,溶于1 L 水中,室温下可长期保存。

试剂 II:1.33 g 邻苯二甲醛,溶于800 ml 水中,再加33 ml 浓硫酸,33 ml $H_3PO_4$(85%),加水至1 L,室温下可长期保存。

### 1.2 仪器

1.2.1 721—A 连续分光光度计。

1.2.2 日本日立7150型全自动生化分析仪。

### 1.3 方法

1.3.1 改良法 取试管分别标明空白、标准、测定,依次加蒸馏水,标准液(7.14 mmol/L)、血清(血浆或稀释尿液)各20 μl,试剂 I 1.5 ml,试剂 II 1.5 ml,混匀。37℃水浴15 min,以空白调"0",读取 $A_{590\ nm}$。

A(测定管)/A(标准管)×7.14(mmol/L)=BU mmol/L

1.3.2 对比法

1.3.2.1 二乙酰—肟法 按《全国临床检验操作规程》[2]介绍方法。

1.3.2.2 脲酶法 用上海长征医学科学有限公司试剂,日立7150全自动生化分析仪进行动力学分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 十六烷基三甲基溴化铵最佳浓度选择

分别配制2.0%、1.0%、0.5%、0.25%四种不同浓度十六烷基三甲基溴化铵于试剂 I 中,按本法操作,BECKMAN—DU70型分光光度计扫描显示,为0.5%、1.0%吸光度最高,故选用0.5%浓度。

### 2.2 改良法与 Gabrie Lopez—Castro 原法的吸收曲线

尿素标准品用原法和改良法显色后,以 BECKMAN—DU70型分光光度计扫描,吸收曲线(见图1)显示:原法出现2个吸收峰,550 nm 和590 nm,易形成干扰;而改良后的方法,在590 nm 处出现一最大吸收峰。两法吸光度明显差异,改良法吸光度为原法的1.9倍(0.165/0.085),改良法明显提高了方法的灵敏度和特异性。

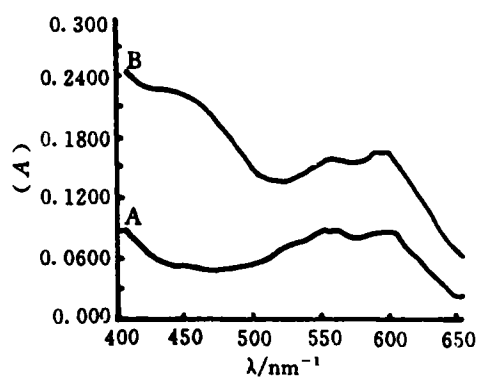



**图1 尿素呈色液吸收曲线(浓度为7.14 mmol/L)**

A.原法曲线 B.改良法曲线

### 2.3 线性范围

用尿素标准液配制0、3.57、7.14、10.71、14.28、17.58、21.42 mmol/L系列浓度测定,发现在0~21.42 mmol/L 以内呈直线。r=0.998,$\hat{y}=0.08+43.87x$。

### 2.4 呈色稳定性

按改良法显色后分别放置在4℃、25℃、32℃于立即及15 min、30 min、60 min、120 min 测定吸光度,发

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

现在以上条件下2 h 内呈色稳定。

2.5 重复试验

混合血清进行重复测定($n=20$),$\bar{x}=6.5$、$S_O$ 0.16,OCV 2.5%;$\bar{x}=6.62$、$S_R$ 0.18、RCV 2.8%。

2.6 回收试验

配制42.84、21.42、7.14 mmol/L 尿素标准液做回收试验,基础值为4.1 mmol/L,测得值分别为8.1、5.96、4.77 mmol/L,回收率分别为95.8%、97.3%、104.6%,平均回收率为99.2%。

2.7 与脲酶法、二乙酰一肟法对比试验

选用高、中、低三种浓度病员标本46例进行对比试验(见图2、3)。

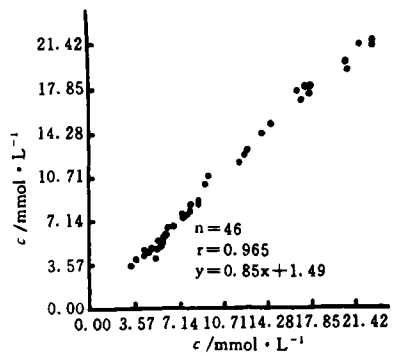



图2 二乙酰一肟与改良法对比曲线

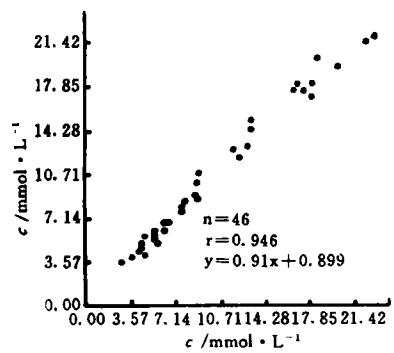



图3 脲酶法与改良法对比曲线

2.8 参考范围

用改良法对40例健康成人检测,男28例、女12例,年龄25～48岁。正常参考范围5.27±1.98 mmol/L。

Gabrie Lopez－Castro 法,加用0.5%十六烷基三甲基溴化铵改良后,消除了标本易混浊的干扰,明显提高了方法的灵敏度。在线性范围内的病理情况可灵敏地反应出来。当尿素浓度在20 mmol/L 以上需稀释后再测定。改良法与脲酶法,二乙酰－肟之间无明显差异。经系统的方法学评价实验说明:该法具有重复性好,线性范围广,且有快速、简便、试剂稳定、用血量少的优点,克服了酶试剂昂贵,不易久存及二乙酰－肟需煮沸的缺点。为急诊检验的优选方法。适用于各种实验室,有一定推广价值。

**关键词** 尿素/血液;邻苯二甲醛;偏钒酸铵;表面活性剂

**中图法分类号** R446.1

## 参考文献

1 Gabrie Lopez－Castro. Colorimetric Reagent for Assay of urea. Clin Chem,1991;37(10):804～805

2 叶应妩,王毓三主编.全国临床检验操作常规.南京:东南大学出版社,1991:226～227

(收稿:1995-01-20;修回:1995-05-15)

# 一种快速、简便测定腺苷酸含量的高效液相色谱法

# A rapid, simple assay of adenine nucleotides by high performance liquid chromatography

朱 珠 陈炜伟 (第三军医大学基础部中心实验室)重庆,630038

腺苷酸类(ATP、ADP、AMP)是参与遗传信息贮存、传递与表达的核酸"构件"分子,亦是生物氧化、能量代谢中的能源物质,其中 ATP 又是临床治疗冠心病及心肌梗塞等的药物,因此这些成分的测定意义十分重大。以往采用电泳法、层析法、酶学方法等分析方法进行测量,方法复杂,测定时间长、灵敏度低。近年来随着高效液相色谱法(HPLC)的广泛应用,已有用 HPLC 分析腺苷酸的文献报道[1～6]。本文在参照这些方法的基础上,结合国内实际情况加以改进,提出用磷酸钠缓冲液溶剂洗脱分离和测定组织中的腺苷酸,12

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net