

PREPARAREA REACTIVULUI

UREA BERTHELOT

Ureaza/Salicilat

Metoda colorimetrica enzimatica

ENDPOINT

Doar pentru utilizarea *in vitro*

CONTINUT

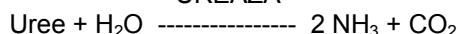
1156010	Urea	2 x 50 mL
1156015	Urea	4 x 100 mL

REF

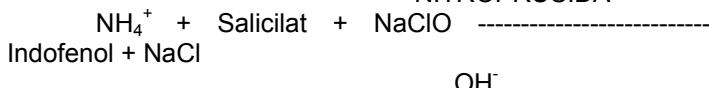
PRINCIPIUL

Aceasta metoda foloseste ureaza in procesul de hidroliza a ureei pentru a se produce ammoniac sau dioxid de carbon. Amoniacul generat reactioneaza cu hipoclorit alcalin si salicilat de sodium in prezenta de sodium nitroprusid pentru a forma nitrofenol colorat. Intensitatea culorii formate este proportionala cu concentratia de uree din proba.

UREAZA



NITROPRUSIDA



CONSTITUENTI SI COMPOZITIE

- **R1 Reactiv enzimatic.** Ureaza > 500 U/mL. Stabilizatori
- **R2 Solutie-tampon de cromogen.** Solutie-tampon de fosfat 20 mmol/L pH 6.9, EDTA 2 mmol/L, salicilat de sodium 60 mmol/L, nitroprusida de sodium 3.4 mmol/L
- **R3 Hipoclorit alcalin.** Hipoclorit de sodium 10 mmol/L, NaOH 150 mmol/L. Xi R:36/38, S26, S37/39.
- **CAL Uree standard.** Uree 50 mg/dL (8.3 mmol/L) Matrice organica bazata pe standardul primar.

CONSERVARE SI STABILITATE

Se pastreaza la o temperaturi de 2-8°C.

Reactivii sunt stabili pana la data de valabilitate scrisa pe eticheta.

Reactiv de lucru. Transferati continutul unei fiole de R1 intr-o sticluta de R2. Amestecati usor pentru dizolvare. Nu scuturati. Cresteti usor R1 cu un volum mic de R2. Acoperiti sticluta si puncti R2-ul in frigider. Este stabil timp de 4 saptamani la o temperatura de 2-8°C sau timp de 7 zile la o temperatura de 15-25°C.

PROBE

Ser sau plasma heparinizata nehemolizata si urina (vezi nota). Alti anticoagulanti (amoniu heparinat sau oxalate de potasiu dublu si amoniu) nu trebuie sa fie utilizati.

Urea in ser, plasma sau urina este stabila timp de 7 zile la o temperatura de 2-8°C. Pentru o pastrare mai indelungata se congeleaza.

INTERFERENTE

- Contaminarea sticlariei de laborator si a apei cu ammoniac, va duce la erori in rezultatul analizelor
- Bilirubina (<20 mg/dL) si trigliceridele (<10 g/L), nu intervin. Hemoglobina (>5 g/L) intervine.
- Fluoridele utilizate in mod frecvent ca anticoagulanti inhiba ureaza din substrat

MATERIALE DE LUCRU

Spectrometru si fotometru cu un compartiment pentru thermostat setat la 37°C, capabil sa citeasca la $600 \pm 10 \text{ nm}$

Cuvete cu o pantă de inclinare de 1 cm

Pipete pentru masurarea reactivilor si probelor

METODA DE LUCRU

1. Se aduc reactivii si probele la temperatura camerei;
2. Pipetati in tuburile de test cu eticheta;

TUBURI	Blanc	Proba	Standard
Reactiv de lucru	1.0 mL	1.0 mL	1.0 mL
Proba	-	10 µL	-
Standard	-	-	10 µL

3. Amestecati si lasati tuburile timp de 5 min la o temperatura de 37°C sau timp de 10 min la temperatura camerei (16-25°C);

4. Cititi absorbanta (A) probelor si standardului la 600 nm opus reactivului blanc.

Culoarea este stabila timp de 2 ore ferita de lumina.

METODA DE CALCUL

Ser, plasma

Aproba

$$\text{-----} \times C_{\text{standard}} = \text{mg/dL uree}$$

Astandard

Probele cu o concentratie mai mare de 300 mg/dL (50 mmol/L) ar trebui sa fie diluata cu 1:5 solutie salina si analizata din nou. Inmultiti rezultatul cu 5.

Urina

Diluati proba cu 1:50 apa distilata si inmultiti rezultatul cu 50.

In cazul in care rezultatele trebuie exprimate in unitati SI se aplica:

$$\text{mg/dL} \times 0.1665 = \text{mmol/L}$$

Pentru a converti unitatile de masa de uree in uree nitrogen se aplica:

$$\text{mg/dL} \times 0.467 = \text{mg/dL BUN}$$

VALORI DE REFERINTA

Ser, plasma

Nou nascuti (<10 zile)	6.4-53.5 mg/dL (1.1-0.9 mmol/L)
Adulti (12-60 ani)	15-40 mg/dL (2.5-6.6 mmol/L)

In cazul adultilor cu o varsta de peste 60 de ani, intervalul de referinta este de 17-50 mg/dL (2.8-8.3 mmol/L) si concentratia tinde sa fie usor mai mare in cazul barbatilor decat la femei.

Urina

Adulti (dieta normala)	26-43 g/24-h (428-714 mmol/24-h)
------------------------	----------------------------------

O dieta bogata in vitamine cauzeaza cresteri considerabile in concentratia de uree din plasma si excretiile urinare.

Se recomanda ca fiecare laborator sa-si stabileasca propiile valori de referinta

CONTROL DE CALITATE

Folosirea unui standard pentru a calcula rezultatele

permite obtinerea unei acuratete a rezultatelor independent de sistem sau de instrument folosit.

Pentru a asigura calitatea de control adevarata (QC), fiecare rulare ar trebui sa include un set de controale (normale sau anormale) cu valorile de analiza tratate ca nestiute.

BC600 MULTISER UMAN NORMAL
NIVEL DE UREE SCAZUT. ANALIZA

REF

BC650 MULTISER UMAN ANORMAL
NIVEL DE UREE CRESCUT.ANALIZA.

REF

SEMNIFICATIA MEDICALA

Urea este produsul final cel mai important de eliberare a proteinelor din metabolism din corp. Importanta concentratiei de uree din sange consta in valoarea sa de indicator al functiilor de rinichi.

Azotemia (o crestere anormala a nivelului de uree din plasma) este vazuta in special ca fiind o disfunctie renala, dehidratare, o crestere a catabolismului de proteine, diete bogate in proteine, sau hemoragie gastrointestinala. Exista doua tipuri de azotemie. Prima, *azotemie prerenala*,

este cauzata de perfuzarea neadecvata a rinichilor ce se datoreaza capacitatii cardiotice scazute sau din cauza unor antecedente. Cea de a doua, *azotemia postrenala*, este cauzata de o obstructie a canalului de scurgere urinar cum ar fi nefrolitiasa, prostatism, si tumori ale tractului genitourinary.

Semnificatia clinica a nivelului de uree in plasma este de obicei determinata prin comparativa cu nivelul de creatinina din plasma. In cazul azotemiei prerenale, o crestere a nivelului de uree din plasma de obicei se face prin comparativa cu nivelul normal de creatinina, unde ca si in cazul azotemiei postrenale, exista o crestere in cazul nivelului de uree din plasma la fel ca si in cazul cresterei nivelului de creatinina din plasma. O scadere a nivelului de uree din plasma poate fi asociata cu o acuta dehidratare, malnutritie, si sarcina.

NOTA

Colectati proba de urina de 24 de ore intr-un recipient de plastic liber. Pastrati proba in frigider pentru a micsora hidroliza ureei prin microorganisme sau alti agenti.

PERFORMANTELE ANALIZEI

- **Linearitate.** Pana la 300 mg/dL
- **Precizie**

mg/dL	In timpul analizei*			Intre analize**		
Mean	25.7	60.1	130	25.7	60.1	130
SD	0.23	0.8	1.65	1.01	1.36	2.3
CV%	0.89	1.33	1.27	3.9	2.26	1.77
N	10	10	10	10	10	10

*Replicati: 10 pentru fiecare nivel

Instrument : UNIKON 930

**Replicati: 10 pentru fiecare nivel timp de 8 zile

Sensibilitate. Folosind o monstra de 1 : 100 proba/reactive la 600 nm, 1 mg de calciu va produce o absorbanta neta de aproximativ 0.002.

Correlatie: Aceasta analiza (y) a fost comparata cu o metoda similara comerciala (x). Rezultate obtinute:

$$N = 25 \quad r = 0.999 \quad y = 0.976X - 1.06$$