

UREA/BUN BR

Ureaza/GIDH

Metoda enzimatica UV

CINETICDoar pentru testarea *in vitro***CONTINUT**

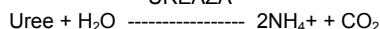
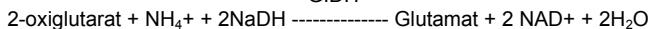
1158005	Urea/ BUN	1 x 50 mL
1158010	Urea/BUN	3 x 100 mL

REF

PRINCIPIUL

Urea este hidrolizata de ureaza in ammoniac si dioxid de carbon. Ammoniacul este convertit in glutamate de catre dehidrogenaza glutamate (GIDH) in prezena NADH-ului si oxoglutaratului.

Reactia este monitorizata kinetic la 340 nm de catre rata de scadere in absorbanta rezultata din oxidarea NADH-ului in NAD⁺, proportionala cu concentratia ureei prezente in proba.

UREAZA**GIDH****CONSTITUENTI SI COMPOZITIE**

- **R1 Solutie tampon de ureaza/GIDH.** TRIS solutie tampon 125 mmol/L pH 7.4 2-oxoglutarat 10 mmol/L, ureaza . 140 U/mL, dehidrogenaza glutamate > 129 U/mL, Biocide.
- **R2 Coenzime.** NADH 1.50 mmol/L
- **CAL Uree standard.** Uree 50 mg/dL (8.3 mmol/L) Matricea organica bazata pe standardul primar.

CONSERVARE SI STABILITATE

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

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

PREPARAREA REACTIVULUI

Reactiv de lucru. Mixati 4 mL de R1 cu 1 mL de R2. Este stabil timp de 2 luni la o temperatura de 2-8°C.

Indepartati reactivul in cazul in care prezinta o absorbanta mai mica de 1:100 la 340 nm opus apei distillate sau in cazul in care nu reupest sa atinga valorile declarate de serul de control

PROBE

Serul sau plasma heparinizata libera de hemoliza si urina (vezi nota). Alti anticoagulanti (amoniu heparinat sau oxalate de potasiu dublu si amoniu) nu trebuie sa fie folosite.

Urea in ser, plasma sau urina este stabil timp de 7 zile la o temperatura de 2-8°C

Inghetati pentru o pastrare indelungata.

- Contaminarea cu ammoniac a sticlariei de laborator si a apei va da valori false ale analizei.
- Bilirubina (<20 mg/dL) si triglyceride (<10 g/L) Hemoglobina (>5 g/L) intervine Fluoridele folosite in mod normal ca anticoagulanti inhiba ureaza substratului.

MATERIALE DE LUCRU

- Fotometru sau spectofotometru cu compartiment de citire termostatat setat la 37°C, capabile sa citeasca la 340 nm
- Ceas de laborator
- Cuvete cu o drum optic de 1 cm
- Pipete pentru masurarea reactivilor sau probelor

METODA DE LUCRU

1. Preincubati reactivul de lucru, probele si standardul la temperatura reactiei
2. Setati fotometrul la o absorbanta 0 cu apa distilata
3. Pipetati intr-o cuveta:

Temperatura reactiei	37°C
Reactiv de lucru	1.0 mL
Proba sau standard	10 µL

4. Amestecati usor prin inversiune. Inserati cuveta in locas si dati drumul la ceasul de laborator.
5. Notati absorbanta la 340 nm exact dupa 30 de secunde (A_1) si exact 90 de secunde mai tarziu (A_2)
6. Calculati diferența dintre cele două absorbante

METODA DE CALCUL

Ser, plasma

$$\frac{(A_1 - A_2)}{(A_1 - A_2)} \times C_{\text{standard}} = \text{mg/dL uree}$$

Probele cu o concentratie mai mare de 300 mg/dL (50 mmol/L) ar trebui sa fie diluata cu o solutie salina si analizata din nou. Inmultiti rezultatele cu 2.

Urina

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

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

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

Pentru a converti unitatile de masa ale ureei in uree nitrogen aplicati:

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

NOTA

Ser, plasma

Nou-nascuti (<10 zile)	6.4-53.5 mg/dL (1.1-9.0 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) iar concentratiile tind sa creasca incet in cazul barbatilor decat in cazul femeilor

Urina

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

O dieta foarte bogata in proteine cauzeaza cresteri de concentratie de uree in plasma si excretii ureice.

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

CONTROL DE CALITATE

Folosirea unui standard pentru a calcula rezultatele permit obtinerea o acuratete a rezultatelor independente de sisteme sau de instrumental 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.

**198005 NIVEL DE SER UMAN NORMAL
NIVEL DE UREE SCAZUT. ANALIZA**

REF

**1985005 NIVEL DE SER UMAN ANORMAL
NIVEL DE UREE CRESCUT. ANALIZA.**

REF

SEMNIFICATIA MEDICALA

Urea este cel mai important produs al metabolismului proteic 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 mai mult ca fiind disfunctii renale, deshidratare, catabolism proteic crescut, diete cu un nivel proteic foarte crescut, sau hemoragie gastrointestinala. Exista doua tipuri de azotemie. Primul caz , azotemia *prerenala*, este cauzata de ranirea nedorita a rinichilor datorata capacitatii cardiaice sau din alte cause prezентate mai sus. Cel de al doilea caz, azotemia *postrenala*, este cauzata de obturarea canalului urinar cum ar fi nefrolitiasa, prostatismul, si tumorile tractului geniturinar.

Semnificatia clinica al nivelului de uree din plasma este de obicei determinat in comparativ cu nivelul de creatinina din plasma. In cazul azotemiei prerenale, o crestere a nivelului de uree din plasma este de obicei asociat cu nivelul normal de creatinina din plasma, pe cand in cazul azotemiei postrenale, exista o crestere a nivelului de uree si creatinina din plasma in acelasi timp. O scadere anivelului de uree din plasma poate fi asociat cu o deshidratare acuta, malnutritie si sarcina.

- Colectati o proba de urina de 24-h intr-un recipient de plastic. Pastrati proba in frigider pentru a minimaliza hidroliza ureei de catre microorganisme sau alti agenti

PERFORMANTELE ANALIZEI

- **Linearitate.** Pana la 500 mg/dL
-
- **Precizie**

mg/dL	In timpul analizei*			Intre analize**		
Mean	35.8	90.6	176.1	35.8	90.6	176.1
SD	1.48	1.8	2.37	1.31	2.11	2.91
CV%	4.13	1.98	1.34	3.66	2.33	1.65
N	10	10	10	10	10	10

*Replicati: 10 pentru fiecare nivel

Instrument: CECIL CE 2021

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

-**Sensitivitate** Folosind acest reagent si metoda cu $\Delta A/min$ de 0:00 citita la 340 nm este echivalent cu 0.6 mg/dL de UREA

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

$$N = 30 \quad r = 0.996 \quad y = 1.019 x + 1.647$$

