



Urea **UNI**

cinética AA

Para la determinación de urea en suero, plasma u orina

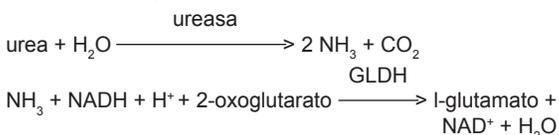
SIGNIFICACION CLINICA

La urea constituye la fracción de nitrógeno no proteico más importante en la mayoría de los líquidos biológicos. En el hombre es el principal producto final del metabolismo proteico. Se produce en el hígado y es excretada por la orina a través de los riñones.

Una elevación de la concentración sérica de urea, se interpreta generalmente como una posible disfunción renal. Sin embargo, no debe dejarse de lado el hecho de que los valores séricos de urea se encuentran íntimamente relacionados con la dieta y el metabolismo proteico, por lo que cualquier alteración en estas variables se traducirá en un cambio de la concentración de urea en suero.

FUNDAMENTOS DEL METODO

Basado en el siguiente esquema reaccionante:



REACTIVOS PROVISTOS

S. Standard*: solución de urea 0,60 g/l (equivalente a 28,04 mg/dl de BUN).

A. Reactivo A: solución conteniendo buffer Good pH 7,6, 2-oxoglutarato, ureasa y glutamato deshidrogenasa (GLDH).

B. Reactivo B: solución conteniendo NADH.

Concentraciones finales

Buffer Good	250 mmol/l
2-Oxoglutarato	7,5 mmol/l
NADH	0,28 mmol/l
Ureasa (Jack bean)	≥ 5000 U/l
GLDH (microbiana)	≥ 800 U/l

REACTIVOS NO PROVISTOS

Calibrador A plus de Wiener lab.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Standard : listo para usar.

Reactivos A y B: listos para usar. Estos pueden usarse separados o como **Reactivo único** mezclando 4 partes de Reactivo A + 1 parte de Reactivo B (ej.: 4 ml Reactivo A + 1 ml Reactivo B).

PRECAUCIONES

Los Reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Reactivos Provistos: son estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. Una vez abiertos, no deben permanecer destapados y fuera del refrigerador durante lapsos de tiempo prolongados. Evitar contaminaciones.

Reactivo único (premezclado): en refrigerador (2-10°C) es estable 30 días a partir del momento de su preparación.

INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

La turbidez es indicio de deterioro de los Reactivos.

Cuando el espectrofotómetro ha sido llevado a cero con agua, lecturas de Absorbancia del Blanco inferiores a 1,000 D.O. (a 340 nm) son indicio de deterioro del mismo.

MUESTRA

Suero, plasma u orina

a) Recolección: obtener suero de la manera usual o plasma recolectado con anticoagulantes comunes. Separar de los glóbulos rojos dentro de las 24 horas de obtenida.

Si la muestra es orina, utilizar preferentemente fresca.

b) Aditivos: en caso de que la muestra a emplear sea plasma, se recomienda el uso de heparina o EDTA (**Anti-coagulante W** de Wiener lab.) para su obtención. No utilizar heparinato de amonio.

c) Sustancias interferentes conocidas: no se observan interferencias por bilirrubina hasta 150 mg/l, hemoglobina hasta 350 mg/dl y triglicéridos hasta 7 g/l.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: la urea en suero es estable 7 días a 20-25°C o a 2-10°C o 1 año a -20°C, sin agregado de conservantes. En orina es estable 2 días a 20-25°C, 7 días a 2-10°C o 4 semanas a -20°C sin agregado de conservantes.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados.
- Cubetas espectrofotométricas
- Cronómetro

CONDICIONES DE REACCION

(disminución de la absorbancia)

- Longitud de onda: 340 nm (Hg 334 ó 366)

- Temperatura de reacción: 37°C

- Tiempo de reacción: 2 minutos

- Volumen de muestra: 10 µl

- Volumen final de la reacción: 1,01 ml

Los volúmenes de Muestra y de Reactivo pueden variarse proporcionalmente a fin de acomodarlos a los requerimientos de los distintos espectrofotómetros.

PROCEDIMIENTO

I- TECNICA CON REACTIVOS SEPARADOS

Llevar a cero el espectrofotómetro con agua destilada. En una cubeta mantenida a la temperatura de trabajo, colocar:

Reactivo A	1 ml
-------------------	------

Muestra o Standard	10 µl
---------------------------	-------

Mezclar sin invertir. Incubar aproximadamente 1 minuto a 37°C. Luego agregar:

Reactivo B	250 µl
-------------------	--------

Mezclar inmediatamente (sin invertir) y disparar simultáneamente un cronómetro. A los 60 segundos exactos medir la absorbancia (D_1 o S_1) y continuar la incubación. Medir nuevamente la absorbancia (D_2 o S_2) a los 120 segundos (60 segundos después de la 1° lectura).

II- TECNICA CON REACTIVO UNICO

Llevar a cero el espectrofotómetro con agua destilada. En una cubeta mantenida a la temperatura de trabajo, colocar:

Reactivo único	1 ml
-----------------------	------

Muestra o Standard	10 µl
---------------------------	-------

Mezclar inmediatamente (sin invertir) y disparar simultáneamente un cronómetro. A los 60 segundos exactos medir la absorbancia (D_1 o S_1) y continuar la incubación. Medir nuevamente la absorbancia (D_2 o S_2) a los 120 segundos (60 segundos después de la 1° lectura).

III- TECNICA EN ORINA

Utilizar la misma técnica (I o II) diluyendo la orina convenientemente con agua o solución fisiológica. Para el cálculo de los resultados, multiplicar por el factor de dilución utilizado.

VALORES DE REFERENCIA

Suero o plasma

0,10 - 0,50 g/l como urea (4,7 - 23,4 mg/dl como BUN)

Este rango se obtuvo de muestras provenientes de 120 individuos habitantes de la ciudad de Rosario (Argentina), de ambos sexos (entre 20 y 45 años), sin síntomas de disfunción renal u otra enfermedad aparente.

Orina

Normalmente, la eliminación de urea está sujeta a grandes variaciones dependientes de la dieta. Por término medio, y con una dieta mixta corriente, se excretan unos 30 g en 24 horas, con oscilaciones comprendidas entre 20 g y 40 g. En la literatura (Tietz, N.W.) se menciona el siguiente rango de referencia:

Suero o plasma: 13 - 43 mg/dl (2,1 - 7,1 mmol/l)

Orina: 26 - 43 g/24 hs (0,43 - 0,72 mol/24 horas)

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CONVERSION DE UNIDADES

Urea (g/l) x 46,7 = BUN (mg/dl)

Urea (mg/dl) x 0,1665 = Urea (mmol/l)

Urea (mg/dl) x 0,467 = BUN (mg/dl)

BUN (mg/dl) x 2,14 = Urea (mg/dl)

Urea (g/24 hs) x 0,0167 = Urea (mol/24 hs)

Para convertir valores de urea (en g/l) a valores de BUN (en mg/dl), se debe utilizar el siguiente factor de conversión:

$$\text{factor} = \frac{1}{2,14} \times \frac{1000}{10} = 46,7$$

donde:

1/2,14 = factor de conversión entre la urea y el nitrógeno ureico en sangre (BUN)

1000 = factor de conversión entre gramo y miligramo

1/10 = factor de conversión entre litro y decilitro

Ejemplo:

0,50 g/l de urea x 46,7 = 23,4 mg/dl de BUN

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

Para preservar la integridad de los reactivos debe emplearse material volumétrico perfectamente limpio y seco.

PERFORMANCE

Los ensayos fueron realizados en analizador Express Plus^(*)

a) Reproducibilidad: procesando simultáneamente 20 replicados de una misma muestra, en un mismo día, se obtienen los siguientes resultados:

Precisión intraensayo

Nivel	D.S.	C.V.
0,283 g/l	± 0,0057 g/l	2,01 %
1,13 g/l	± 0,0136 g/l	1,20 %

Precisión interensayo

Nivel	D.S.	C.V.
0,28 g/l	± 0,0066 g/l	2,36 %
1,13 g/l	± 0,0148 g/l	1,31 %

CALCULO DE LOS RESULTADOS

$$\text{Urea (g/l)} = f \times (D_1 - D_2) \quad f = \frac{0,60 \text{ g/l}}{(S_1 - S_2)}$$

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Standatrol S-E 2 niveles**) con concentraciones conocidas de urea, con cada determinación.

b) Sensibilidad: la sensibilidad analítica de **Urea UV cinética AA líquida** es 0,071 g/l (7,1 mg/dl) de urea o 3,32 mg/dl de BUN y el límite de detección es 0,0383 g/l (3,83 mg/dl) de urea o 1,79 mg/dl de BUN.

c) Linealidad: la reacción es lineal hasta 3 g/l (300 mg/dl) de urea y hasta 140 mg/dl como BUN. Para valores superiores, diluir la muestra original 1:2 con agua destilada y repetir la determinación. Corregir los cálculos multiplicando el resultado por el factor de dilución empleado.

d) Correlación: se determinó el valor de urea en 158 muestras usando **Urea UV cinética AA líquida** y otro kit comercial basado en el mismo principio. El coeficiente de correlación obtenido fue el siguiente:

$r = 0,9995$; pendiente $b = 1,0093$; intersección $a = 0,0985$

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Consultar las instrucciones de programación en el Manual del Usuario del analizador en uso.

Para la calibración, se debe utilizar **Calibrador A plus** de Wiener lab., de acuerdo a los requerimientos del analizador.

PRESENTACION

- 225 ml (3 x 60 ml Reactivo A + 3 x 15 ml Reactivo B), sin Standard (Cód. 1009319).
- 250 ml (1 x 200 ml Reactivo A + 5 x 10 ml Reactivo B), Standard incluido (Cód. 1810326)*.
- 250 ml (2 x 100 ml Reactivo A + 5 x 10 ml Reactivo B), Standard incluido (Cód. 1810331)*.
- 300 ml (4 x 60 ml Reactivo A + 1 x 60 ml Reactivo B), sin Standard (Cód. 1009634).
- 300 ml (4 x 60 ml Reactivo A + 1 x 60 ml Reactivo B), sin Standard (Cód. 1009942)*.
- 400 ml (8 x 40 ml Reactivo A + 4 x 20 ml Reactivo B), sin Standard (Cód. 1009275).
- 500 ml (4 x 100 ml Reactivo A + 4 x 25 ml Reactivo B), Standard incluido (Cód. 1810324).
- 1000 ml (4 x 200 ml Reactivo A + 1 x 200 ml Reactivo B), Standard incluido (Cód. 1810328).
- 100 ml (4 x 20 ml Reactivo A + 2 x 10 ml Reactivo B), sin Standard (Cód. 1009807)*.

BIBLIOGRAFIA

- Searcy, R.L. - "Diagnostic Biochemistry" McGraw-Hill, New York, NY 1969.
- Talke, H.; Schubert, G.E. - Klin Wochschr 43:174, 1965.
- Tiffany, T.O.; Jansen, J.M.; Burtis, C.A.; Overton, J.B.; Scott, C.D. - Clin. Chem. 18:829, 1972.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACCC Press, 4th ed., 2001.
- Tietz Fundamentals of clinical chemistry - Burtis, C., Ashwood, E. (5^o Edition) WB Saunders, 2001.

SÍMBOLOS

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.



Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado en la Comunidad Europea



Uso diagnóstico "in vitro"



Contenido suficiente para <n> ensayos



Fecha de caducidad



Límite de temperatura (conservar a)



No congelar



Riesgo biológico



Volumen después de la reconstitución



Contenido



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Cáustico



Irritante



Consultar instrucciones de uso



Calibrador



Control



Control Positivo



Control Negativo



Número de catálogo



SIGNIFICADO CLÍNICO

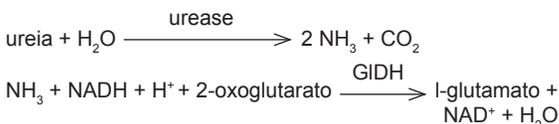
A ureia constitui a fração de nitrogênio não proteico mais importante na maioria dos líquidos biológicos. No homem é o principal produto final do metabolismo proteico.

É produzida pelo fígado e excretada pela urina através dos rins.

Uma elevação da concentração sérica da ureia, interpreta-se geralmente como uma possível disfunção renal. Porém, não se deve esquecer o fato de que os valores séricos da ureia encontram-se intimamente relacionados com a dieta e o metabolismo proteico, portanto qualquer alteração nestas variáveis implica uma alteração da concentração da ureia no soro.

FUNDAMENTOS DO MÉTODO

Baseado no seguinte esquema de reação:



REAGENTES FORNECIDOS

S. Padrão*: solução de ureia 0,60 g/l (equivalente a 28,04 mg/dl de BUN).

A. Reagente A: solução contendo tampão Good pH 7,6, 2-oxogluturato, urease e glutamato desidrogenase (GIDH).

B. Reagente B: solução contendo NADH.

Concentrações finais

Tampão Good.....	250 mmol/l
2-Oxogluturato.....	7,5 mmol/l
NADH.....	0,28 mmol/l
Urease (Jack bean).....	≥ 5000 U/l
GIDH (microbiana).....	≥ 800 U/l

REAGENTES NÃO FORNECIDOS

Calibrador A Plus da Wiener lab.

INSTRUÇÕES DE USO

Padrão: pronto para uso.

Reagentes A e B: prontos para uso. Podem ser utilizados separadamente ou como **Reagente único** misturando-se 4 partes de Reagente A + 1 parte de Reagente B (ex. misturando 4 ml Reagente A + 1 ml Reagente B).

PRECAUÇÕES

Os Reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas.

Todos os reagentes e as amostras devem ser descartados conforme a regulamentação local vigente.

ESTABILIDADE E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

Reagentes Fornecidos: são estáveis sob refrigeração (2-10°C) até a data do vencimento indicado na embalagem. Uma vez abertos não devem permanecer destampados nem fora do refrigerador durante períodos de tempo prolongados. Evitar contaminações.

Reagente único (pré-misturado): estável sob refrigeração (2-10°C) por 30 dias a contar da data de sua preparação.

INDÍCIOS DE INSTABILIDADE OU DETERIORAÇÃO DOS REAGENTES

A turbidez é indício de deterioração dos Reagentes.

Quando o espectrofotômetro é zerado com água, leituras de Absorbância do Branco inferiores a 1,000 D.O. (a 340 nm) são indícios de deterioração do mesmo.

AMOSTRA

Soro, plasma ou urina

a) Coleta: obter soro da maneira habitual ou plasma coletado com anticoagulantes comuns. Separar dos eritrócitos dentro das 24 horas após a obtenção da amostra.

Se a amostra for urina, utilizar preferencialmente fresca.

b) Aditivos: caso a amostra a ser utilizada seja plasma, recomenda-se o uso de heparina ou EDTA (**Anticoagulante W** de Wiener lab.) para sua obtenção. Não utilizar heparinato de amônio.

c) Substâncias interferentes conhecidas: não são observadas interferências por bilirrubina até 150 mg/l, hemoglobina até 350 mg/dl nem triglicérides até 7 g/l.

Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

d) Estabilidade e instruções de armazenamento: a ureia em soro é estável 7 dias a 20-25°C ou a 2-10°C ou 1 ano a -20°C, sem acréscimo de conservantes. Em urina é estável 2 dias a 20-25°C, 7 dias a 2-10°C ou 4 semanas a -20°C sem acréscimo de conservantes.

MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Espectrofotômetro
- Micropipetas e pipetas para medir os volumes indicados.
- Cubetas espectrofotométricas
- Cronômetro

CONDIÇÕES DE REAÇÃO

(diminuição da absorbância)

- Comprimento de onda: 340 nm (Hg 334 ou 366)
- Temperatura da reação: 37°C
- Tempo de reação: 2 minutos
- Volume de amostra: 10 ul
- Volume final da reação: 1,01 ml

Os volumes de Amostra e de Reagente podem variar proporcionalmente a fim de adaptá-los aos requerimentos dos diferentes espectrofotômetros.

PROCEDIMENTO

I- TÉCNICA COM REAGENTES SEPARADOS

Zerar o aparelho com água destilada.

Em uma cubeta mantida à temperatura de trabalho, colocar:

Reagente A	1 ml
------------	------

Amostra ou Padrão	10 ul
-------------------	-------

Misturar sem inversão. Incubar por aproximadamente 1 minuto a 37°C. Após acrescentar:

Reagente B	250 ul
------------	--------

Misturar imediatamente (sem inversão) e disparar simultaneamente o cronômetro. Ler a absorbância após 60 segundos (D_1 ou P_1) e continuar a incubação. Medir novamente a absorbância (D_2 ou P_2) aos 120 segundos (60 segundos depois da 1ª leitura).

II- TÉCNICA COM REAGENTE ÚNICO

Zerar o aparelho com água destilada.

Em uma cubeta mantida à temperatura de trabalho colocar:

Reagente único	1 ml
----------------	------

Amostra ou Padrão	10 ul
-------------------	-------

Misturar imediatamente (sem inversão) e disparar simultaneamente o cronômetro. Ler a absorbância após 60 segundos (D_1 ou P_1) e continuar a incubação. Medir novamente a absorbância (D_2 ou P_2) aos 120 segundos (60 segundos depois da 1ª leitura).

III- TÉCNICA EM URINA

Utilizar a mesma técnica (I ou II) diluindo a urina convenientemente com água ou solução fisiológica. Para o cálculo dos resultados, multiplicar pelo fator de diluição utilizado.

CÁLCULO DOS RESULTADOS

$$\text{Ureia (g/l)} = f \times (D_1 - D_2) \quad f = \frac{0,60 \text{ g/l}}{(P_1 - P_2)}$$

MÉTODO DE CONTROLE DE QUALIDADE

Processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (**Standatrol S-E 2 níveis**) com concentrações conhecidas de ureia, com cada determinação.

VALORES DE REFERÊNCIA

Soro ou plasma: 0,10 - 0,50 g/l como ureia (4,7 - 23,4 mg/dl como BUN)

Esta faixa foi obtida a partir de amostras provenientes de 120 habitantes da cidade de Rosario (Argentina), pertencentes a ambos os sexos (entre 20 e 45 anos), sem sintomas de disfunção renal ou outra doença aparente.

Urina

Normalmente, a eliminação de ureia está sujeita a grandes variáveis que dependem do hábito alimentar. Tendo uma dieta balanceada e equilibrada são eliminados 30 g em 24 horas com oscilações entre 20 g e 40 g.

A literatura (Tietz, N.W.) faz menção da seguinte faixa de referência:

Soro ou plasma: 13 - 43 mg/dl (2,1 - 7,1 mmol/l)

Urina: 26 - 43 g/24 hs (0,43 - 0,72 mol/24 horas)

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

CONVERSÃO DE UNIDADES

Ureia (g/l) x 46,7 = BUN (mg/dl)

Ureia (mg/dl) x 0,1665 = Ureia (mmol/l)

Ureia (mg/dl) x 0,467 = BUN (mg/dl)

BUN (mg/dl) x 2,14 = Ureia (mg/dl)

Ureia (g/24 hs) x 0,0167 = Ureia (mol/24 hs)

Para converter valores de ureia (em g/l) a valores de BUN (em mg/dl), deve-se utilizar o seguinte fator de conversão:

$$\text{fator} = \frac{1}{2,14} \times \frac{1000}{10} = 46,7$$

onde:

1/2,14 = fator de conversão entre a ureia e o nitrogênio ureico no sangue (BUN)

1000 = fator de conversão entre grama e miligrama

1/10 = fator de conversão entre litro e decilitro

Exemplo:

0,50 g/l de ureia x 46,7 = 23,4 mg/dl de BUN

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- Vide Substâncias interferentes conhecidas em AMOSTRA.

- Para preservar a integridade dos reagentes deve ser utilizado material volumétrico perfeitamente limpo e seco.

DESEMPENHO

Os ensaios foram realizados no analisador Express Plus^(*)

a) Reprodutibilidade: processando simultaneamente 20 duplicatas das mesmas amostras no mesmo dia, foram obtidos os seguintes dados:

Precisão intra-ensaio

Nível	D.P.	C.V.
0,283 g/l	± 0,0057 g/l	2,01 %
1,13 g/l	± 0,0136 g/l	1,20 %

Precisão inter-ensaio

Nível	D.P.	C.V.
0,28 g/l	± 0,0066 g/l	2,36 %
1,13 g/l	± 0,0148 g/l	1,31 %

b) Sensibilidade: a sensibilidade analítica de **Urea UV cinética AA** é de 0,071 g/l (7,1 mg/dl) de ureia ou 3,32 mg/dl de BUN e o limite de detecção é 0,0383 g/l (3,83 mg/dl) de ureia ou 1,79 mg/dl de BUN.

c) Linearidade: a reação é linear até 3 g/l (300 mg/dl) de ureia e até 140 mg/dl como BUN. Para valores superiores, diluir a amostra original 1:2 com água destilada e repetir a determinação. Corrigir os cálculos multiplicando o resultado pelo fator de diluição empregado.

d) Correlação: o valor de ureia foi determinado em 158 amostras, utilizando **Urea UV cinética AA líquida** da Wiener lab. e outro kit comercial baseado no mesmo princípio, obtendo-se o seguinte coeficiente de correlação:

$r = 0,9995$, $\text{pendente } b = 1,0093$, $\text{interseção } a = 0,0985$

PARÂMETROS PARA ANALISADORES AUTOMÁTICOS

Consultar as instruções de programação no Manual de Uso do analisador a utilizar.

Para a calibração deve-se utilizar um calibrador baseado em soro (**Calibrador A plus** da Wiener lab.).

APRESENTAÇÃO

- 225 ml (3 x 60 ml Reagente A + 3 x 15 ml Reagente B), sem Padrão (Cód. 1009319).
- 250 ml (1 x 200 ml Reagente A + 5 x 10 ml Reagente B), com Padrão (Cód. 1810326)*.
- 250 ml (2 x 100 ml Reagente A + 5 x 10 ml Reagente B), com Padrão (Cód. 1810331)*.
- 300 ml (4 x 60 ml Reagente A + 1 x 60 ml Reagente B), sem Padrão (Cód. 1009634).
- 300 ml (4 x 60 ml Reagente A + 1 x 60 ml Reagente B), sem Padrão (Cód. 1009942)*.
- 400 ml (8 x 40 ml Reagente A + 4 x 20 ml Reagente B), sem Padrão (Cód. 1009275).
- 500 ml (4 x 100 ml Reagente A + 4 x 25 ml Reagente B), Padrão incluso (Cód. 1810324).
- 1000 ml (4 x 200 ml Reagente A + 1 x 200 ml Reagente B), Padrão incluso (Cód. 1810328).
- 100 ml (4 x 20 ml Reagente A + 2 x 10 ml Reagente B), sem Padrão (Cód. 1009807)*.

REFERÊNCIA

- Searcy, R.L. - "Diagnostic Biochemistry" McGraw-Hill, New York, NY 1969.
- Talke, H.; Schubert, G.E. - Klin Wochschr 43:174, 1965..
- Tiffany, T.O.; Jansen, J.M.; Burtis, C.A.; Overton, J.B.; Scott, C.D. - Clin. Chem. 18:829, 1972..
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.
- Tietz Fundamentals of clinical chemistry - Burtis, C., Ashwood, E. (5^o Edition) WB Saunders, 2001.

SÍMBOLOS

Os seguintes símbolos são utilizados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab.



Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"

Representante autorizado na Comunidade Europeia

Uso médico-diagnóstico "in vitro"

Conteúdo suficiente para <n> testes

Data de validade

Limite de temperatura (conservar a)

Não congelar

Risco biológico

Volume após a reconstituição

Conteúdo

Número de lote

Elaborado por:

Nocivo

Corrosivo / Caústico

Irritante

Consultar as instruções de uso

Calibrador

Controle

Controle Positivo

Controle Negativo

Número de catálogo



Urea

cinética AA

For urea determination in serum, plasma or urine

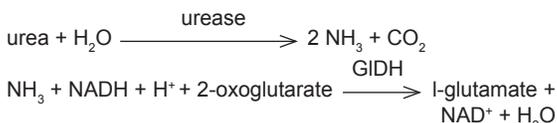
SUMMARY

Urea constitutes the most important fraction of non-protein nitrogen present in most biological fluids. It is the main end product of protein metabolism in human beings. It is produced in the liver and is eliminated from the body by urine through the kidneys.

An increase in the concentration of serum urea is generally interpreted as a possible renal dysfunction. However, it should be considered that urea serum values are closely related to diet and protein metabolism, therefore any alteration in these variables will result in a change in the concentration of serum urea.

PRINCIPLE

The reaction system is as follows:



PROVIDED REAGENTS

S. Standard*: 0.60 g/l urea solution (equivalent to 28.04 mg/dl BUN).

A. Reagent A: solution containing Good buffer pH 7.6, 2-oxoglutarate, urease and glutamate dehydrogenase (GIDH).

B. Reagent B: NADH solution.

Final concentrations

Good buffer.....	250 mmol/l
2-Oxoglutarate.....	7.5 mmol/l
NADH.....	0.28 mmol/l
Urease (Jack bean).....	≥ 5,000 U/l
GIDH (microbial).....	≥ 800 U/l

NON-PROVIDED REAGENTS

Wiener lab.'s **Calibrador A Plus**.

INSTRUCTIONS FOR USE

Standard: ready to use.

Reagents A and B: ready to use. They can be used separately or as a **Monoreagent** mixing 4 parts of Reagent A + 1 part of Reagent B (e.g. 4 ml Reagent A + 1 ml Reagent B).

WARNINGS

Reagents are for "in vitro" diagnostic use.

Use the reagents according to the working procedures for clinical laboratories.

The reagents and samples should be discarded according to the local regulations in force.

STABILITY AND STORAGE INSTRUCTIONS

Provided Reagents: stable in refrigerator (2-10°C) until the expiration date shown on the box. Once opened, they should not remain opened and outside the refrigerator for long periods of time. Avoid contamination.

Monoreagent (premixed): stable in refrigerator (2-10°C) for 30 days from preparation date.

INSTABILITY OR DETERIORATION OF REAGENTS

Turbidity indicates deterioration of reagents.

When spectrophotometer has been set to zero with distilled water, Blank absorbance readings below 1.000 O.D. (at 340 nm) indicate the reagent deterioration.

SAMPLE

Serum, plasma or urine

a) Collection: obtain serum in the usual way, or plasma collected with ordinary anticoagulants. Separate from red blood cells within 24 hours from the sample collection. If urine is used, it should be preferably fresh.

b) Additives: if plasma is used as sample, collection with heparin or EDTA (Wiener lab.'s **Anticoagulante W**), is recommended.

c) Known interfering substances: no interferences are observed from: bilirubin up to 150 mg/l hemoglobin up to 350 mg/dl and triglycerides up to 7 g/l.

See Young, D.S. in References for effect of drugs on the present method.

d) Stability and storage instructions: serum urea is stable for up to 7 days at 20-25°C or 2-10°C or up to 12 months at -20°C without preservatives. Urine urea is stable for up to 2 days at 20-25°C, 7 days at 2-10°C or up to 4 weeks at -20°C without preservatives.

REQUIRED MATERIAL (non-provided)

- Spectrophotometer
- Micropipettes and pipettes for measuring the stated volumes
- Spectrophotometric cuvettes
- Stopwatch

ASSAY CONDITIONS

(absorbance decrease)

- Wavelength: 340 nm (Hg 334 or 366)
- Reaction temperature: 37°C
- Reaction time: 2 minutes

- Sample volume: 10 ul
 - Final reaction volume: 1.01 ml
- Sample and Reagent volumes may be varied proportionally in order to meet the requirements of different spectrophotometers.

PROCEDURE

I- SEPARATE REAGENTS' TECHNIQUE

Set spectrophotometer to zero O.D. with distilled water. In a cuvette at the selected temperature, place:

Reagent A	1 ml
------------------	------

Sample or Standard	10 ul
---------------------------	-------

Mix without inversion. Incubate for approximately 1 minute at 37°C. Then add:

Reagent B	250 ul
------------------	--------

Mix without inversion and simultaneously start the stopwatch. Read absorbance (U_1 or S_1) at exactly 60 seconds and continue incubation. Read absorbance again (U_2 or S_2) at exactly 120 seconds (60 seconds after first reading).

II- MONOREAGENT TECHNIQUE

Set spectrophotometer to zero O.D. with distilled water. In a cuvette at the selected temperature, place:

Monoreagent	1 ml
--------------------	------

Sample or Standard	10 ul
---------------------------	-------

Mix without inversion and simultaneously start the stopwatch. Read absorbance (U_1 or S_1) at exactly 60 seconds and continue incubation. Read absorbance again (U_2 or S_2) at exactly 120 seconds (60 seconds after first reading).

III- URINE TECHNIQUE

Follow the above technique (I or II) diluting the sample properly with water or saline. Calculate the results, multiplying by the dilution factor used.

CALCULATIONS

$$\text{Urea (g/l)} = f \times (U_1 - U_2) \quad f = \frac{0.60 \text{ g/l}}{(S_1 - S_2)}$$

QUALITY CONTROL METHOD

Each time the test is performed, analyze two levels of a quality control material (**Standatrol S-E 2 niveles**) with known urea concentration.

REFERENCE VALUES

Serum or plasma

0.10 - 0.50 g/l as urea (4.7-23.4 mg/dl as BUN)

This range was obtained from sera of 120 fasting individuals from both sexes, with ages ranging from 20 and 45 years, living in or near Rosario (Argentina), with no symptoms of renal dysfunction or other apparent disease.

Urine

Normally, urea elimination shows great variations depending on diet. On average and with an ordinary mixed diet, 30 g are excreted in 24 hours, with oscillations ranging from 20 g to 40 g.

In the literature (Tietz, N.W.) the following reference value range is mentioned:

Serum or plasma: 13 - 43 mg/dl (2,1 - 7,1 mmol/l)

Urine: 26 - 43 g/24 hs (0,43 - 0,72 mol/24 horas)

It is recommended that each laboratory establishes its own reference values.

UNITS CONVERSION

Urea (g/l) x 46.7 = BUN (mg/dl)

Urea (mg/dl) x 0.1665 = Urea (mmol/l)

Urea (mg/dl) x 0.467 = BUN (mg/dl)

BUN (mg/dl) x 2.14 = Urea (mg/dl)

Urea (g/24 hs) x 0.0167 = Urea (mol/24 hs)

To convert Urea values (in g/l) to BUN values (in mg/dl) a conversion factor must be used.

$$\text{Conversion factor} = \frac{1}{2.14} \times \frac{1000}{10} = 46.7$$

where:

1/2.14 = conversion factor between urea and blood urea nitrogen (BUN)

1000 = conversion factor between gram and milligram

1/10 = conversion factor between liter and deciliter

Example: Urea 0.50 g/l x 46.7 = BUN 23.4 mg/dl

PROCEDURE LIMITATIONS

See Known interfering substances under SAMPLE.

In order to preserve the reagent's integrity, perfectly clean and dry volumetric material should be used.

PERFORMANCE

The assay were performed in an Express plus analyzer (*)

a) Reproducibility: when 20 replicates from the same sample were simultaneously assayed, the following results were obtained:

Intra-assay

Level	S.D.	C.V.
0.283 g/l	± 0.0057 g/l	2.01 %
1.13 g/l	± 0.0136 g/l	1.20 %

Inter-assay

Level	S.D.	C.V.
0.28 g/l	± 0.0066 g/l	2.36 %
1.13 g/l	± 0.0148 g/l	1.31 %

b) Sensitivity: the analytical sensitivity of **Urea UV cinética AA líquida** is 0.071 g/l (7.1 mg/dl) of urea or 3.32 mg/dl BUN and the detection limit is 0.0383 g/l (3.83 mg/dl) of urea or 1.79 mg/dl BUN.

c) Linearity: reaction is linear up to 3 g/l (300 mg/dl) as urea and up to 140 mg/dl BUN. For higher values dilute original sample 1:2 with distilled water and repeat assay. Correct

calculations multiplying the result by the dilution factor used.
d) Correlation: urea levels of 158 specimens were determined using the Wiener lab's **Urea UV cinética AA líquida** kit and a commercial kit based on same principle. The correlation coefficient was:
 $r = 0.9995$, slope $b = 1.0093$ and intercept $a = - 0.0985$.

PARAMETERS FOR AUTOANALYZERS

For programming instructions check the user's manual of the autoanalyzer in use. For calibration, it must be used Wiener lab.'s **Calibrador A plus**.

WIENER LAB. PROVIDES

- 225 ml (3 x 60 ml Reagent A + 3 x 15 ml Reagent B), non-included Standard (Cat. N° 1009319).
- 250 ml (1 x 200 ml Reagent A + 5 x 10 ml Reagent B), included Standard (Cat. N° 1810326)*.
- 250 ml (2 x 100 ml Reagent A + 5 x 10 ml Reagent B), included Standard (Cat. N° 1810331)*.
- 300 ml (4 x 60 ml Reagent A + 1 x 60 ml Reagent B), non-included Standard (Cat. N° 1009634).
- 300 ml (4 x 60 ml Reagent A + 1 x 60 ml Reagent B), non-included Standard (Cat. N° 1009942)*.
- 400 ml (8 x 40 ml Reagent A + 4 x 20 ml Reagent B), non-included Standard (Cat. N° 1009275).
- 500 ml (4 x 100 ml Reagent A + 4 x 25 ml Reagent B), included Standard (Cat. N° 1810324).
- 1000 ml (4 x 200 ml Reagent A + 1 x 200 ml Reagent B), included Standard (Cat. N° 1810328).
- 100 ml (4 x 20 ml Reagent A + 2 x 10 ml Reagent B), non-included Standard (Cat. N° 1009807)*.

REFERENCES

- Searcy, R.L. - "Diagnostic Biochemistry" McGraw-Hill, New York, NY 1969.
- Talke, H.; Schubert, G.E. - Klin Wochschr 43:174, 1965.
- Tiffany, T.O.; Jansen, J.M.; Burtis, C.A.; Overton, J.B.; Scott, C.D. - Clin. Chem. 18:829, 1972.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 3rd ed., 1990.
- Tietz Fundamentals of clinical chemistry - Burtis, C., Ashwood, E. (5th Edition) WB Saunders, 2001.

SYMBOLS

The following symbols are used in the packaging for Wiener lab. diagnostic reagents kits.

	This product fulfills the requirements of the European Directive 98/79 EC for "in vitro" diagnostic medical devices
	Authorized representative in the European Community
	"In vitro" diagnostic medical device
	Contains sufficient for <n> tests
	Use by
	Temperature limitation (store at)
	Do not freeze
	Biological risks
	Volume after reconstitution
	Contents
	Batch code
	Manufactured by:
	Harmful
	Corrosive / Caustic
	Irritant
	Consult instructions for use
	Calibrator
	Control
	Positive Control
	Negative Control
	Catalog number

- Czas reakcji: 2 minuty
 - Objętość materiału badanego: 10 ul
 - Objętość reakcji końcowej: 1,01 ml
- Objętości Materiału badanego i Odczynnika mogą być zmieniane proporcjonalnie celem spełnienia wymogów dla różnych spektrofotometrów.

PROCEDURA

I- METODA ODDZIELNYCH ODCZYNNIKÓW

Ustawić spektrofotometr na zero O.D na wodzie destylowanej.

W kuwecie o wybranej temperaturze umieścić:

Odczynnik A	1 ml
--------------------	------

Materiał badany lub Próba wzorcowa	10 ul
---	-------

Zamieszać bez odwracania. Inkubować około 1 minutę w temp. 37°C. Następnie dodać:

Odczynnik B	250 ul
--------------------	--------

Zamieszać bez odwracania i równocześnie włączyć stoper.

Odczytać absorbancję (U_1 lub S_1) dokładnie w 60 sekundzie i kontynuować inkubację. Odczytać absorbancję ponownie (U_2 lub S_2) dokładnie w 120 sekundzie (tj. 60 sekund po pierwszym odczycie).

II- METODA Z MONOODCZYNNIKIEM

Ustawić spektrofotometr na zero O.D na wodzie destylowanej.

W kuwecie o wybranej temperaturze umieścić:

Monoodczynnik	1 ml
----------------------	------

Materiał badany lub Próba wzorcowa	10 ul
---	-------

Zamieszać bez odwracania i równocześnie włączyć stoper.

Odczytać absorbancję (U_1 lub S_1) dokładnie w 60 sekundzie i kontynuować inkubację. Odczytać absorbancję ponownie (U_2 lub S_2) dokładnie w 120 sekundzie (tj. 60 sekund po pierwszym odczycie).

III- METODA DO MOCZU

Stosować tą samą metodę (I lub II) rozcieńczając próbkę moczu z wodą lub solą fizjologiczną. Do obliczania wyników, pomnożyć przez współczynnik rozcieńczenia.

OBLICZENIA

$$\text{Mocznik (g/l)} = f \times (U_1 - U_2) \quad f = \frac{0,60 \text{ g/l}}{(S_1 - S_2)}$$

METODA KONTROLI JAKOŚCI

W trakcie przeprowadzania badania, za każdym razem, należy przeprowadzać analizę jakości na dwóch poziomach (**Standatrol S-E 2 niveles**) ze znanym poziomem stężenia mocznika.

WARTOŚCI REFERENCYJNE

Surowica krwi lub osocze

0,10 - 0,50 g/l jako mocznik (4,7-23,4 mg/dl jako BUN)

Zakres ten otrzymano na podstawie przeprowadzonych oznaczeń surowicy krwi pobranej na czczo od 120 osób obojga płci, w wieku od 20-45 roku życia, żyjących w Rosario (Argentina) lub okolicy, bez objawów zaburzeń funkcji nerek i jakichkolwiek innych chorób.

Mocz

Przeważnie, usuwanie mocznika podlega duże różnice w zależności od diety. Średnio, przy spożyciu normalnej diety, wydalone są 30 g w ciągu 24 godzin, z różnicami pomiędzy 20 g do 40 g.

W literaturze (Tietz, N.W.) wymieniono następujące wartości referencyjne:

Surowica lub osocze: 13 - 43 mg/dl (2,1 - 7,1 mmol/l)

Mocz: 26 - 43 g/24 godz. (0,43 - 0,72 mol/24 godz.)

Zaleca się dla każdego laboratorium ustalenie własnych wartości referencyjnych.

KONWERSJA JEDNOSTEK SI

Mocznik (g/l) x 46,7 = BUN (mg/dl)

Mocznik (mg/dl) x 0,1665 = Mocznik (mmol/l)

Mocznik (mg/dl) x 0,467 = BUN (mg/dl)

BUN (mg/dl) x 2,14 = Mocznik (mg/dl)

Mocznik (g/24 godz.) x 0,0167 = Mocznik (mol/24 godz.)

OGRANICZENIA PROCEDURY

Zobacz znane interakcje w rozdziale MATERIAŁ BADANY. Celem utrzymania jakości odczynnika należy utrzymać w doskonałej czystości i suchości sprzęt do pomiaru objętości.

CHARAKTERYSTYKA TESTU

Badanie wykonano w analizatorze Express plus[®]

a) Powtarzalność: wykonano 20 powtórzeń badania tego samego materiału badanego równocześnie i otrzymano następujące wyniki:

W trakcie badania

Poziom	S.D.	C.V.
0,283 g/l	± 0,0057 g/l	2,01 %
1,13 g/l	± 0,0136 g/l	1,20 %

Pomiędzy badaniami

Poziom	S.D.	C.V.
0,28 g/l	± 0,0066 g/l	2,36 %
1,13 g/l	± 0,0148 g/l	1,31 %

b) Czulość: analityczna czulość Urea UV cinética AA líquida wynosi 0,071 g/l (7,1 mg/dl) dla mocznika lub 3,32 mg/dl dla BUN a granica wykrywalności wynosi odpowiednio 0,0383 g/l (3,83 mg/dl) dla mocznika lub 1,79 mg/dl dla BUN.

c) Linijność: reakcja jest linijna do 3 g/l (300 mg/dl) dla mocznika i do 140 mg/dl dla BUN. Dla wyższych wartości należy rozcieńczyć materiał badany 1:2 wodą destylowaną i powtórzyć badanie. Uwzględnić w OBLICZENIACH współczynnik zastosowanego rozcieńczenia.

d) Korelacja: oznaczono poziomy mocznika w 158 próbkach

przy zastosowaniu zestawu Urea UV cinética AA Líquida Wiener lab i podobnego zestawu dostępnego na rynku, opartego na tej samej zasadzie działania. Współczynnik korelacji wynosił:

$r = 0,9995$, współczynnik regresji slope $b = 1,0093$ and wyraz wolny intercept $a = -0,0985$.

PARAMETRY DLA ANALIZATORÓW AUTOMATYCZNYCH

Celem programowania zapoznać się z instrukcją obsługi używanego analizatora automatycznego.

Do kalibracji: należy zastosować **Calibrador A plus** Wiener lab.

WIENER LAB. DOSTARCZA

- 225 ml (3 x 60 ml Odczynnik A + 3 x 15 ml Odczynnik B), nie zawiera Próby wzorcowej (Nr kat. 1009319).
- 250 ml (1 x 200 ml Odczynnik A + 5 x 10 ml Odczynnik B), zawiera Próbę wzorcową (Nr kat. 1810326).
- 250 ml (2 x 100 ml Odczynnik A + 5 x 10 ml Odczynnik B), zawiera Próbę wzorcową (Nr kat. 1810331).
- 300 ml (4 x 60 ml Odczynnik A + 1 x 60 ml Odczynnik B), nie zawiera Próby wzorcowej (Nr kat. 1009634).
- 300 ml (4 x 60 ml Odczynnik A + 1 x 60 ml Odczynnik B), nie zawiera Próby wzorcowej (Cat. N° 1009942).
- 400 ml (8 x 40 ml Odczynnik A + 4 x 20 ml Odczynnik B), nie zawiera Próby wzorcowej (Nr kat. 1009275).
- 500 ml (4 x 100 ml Odczynnik A + 4 x 25 ml Odczynnik B), zawiera Próbę wzorcową (Nr kat. 1810324).
- 1000 ml (4 x 200 ml Odczynnik A + 1 x 200 ml Odczynnik B), zawiera Próbę wzorcową (Nr kat. 1810328).
- 100 ml (4 x 20 ml Odczynnik A + 2 x 10 ml Odczynnik B), nie zawiera Próby wzorcowej (Nr kat. 1009807).

ŹRÓDŁA

- Searcy, R.L. - "Diagnostic Biochemistry" McGraw-Hill, New York, NY 1969.
- Talke, H.; Schubert, G.E. - Klin Wochschr 43:174, 1965.
- Tiffany, T.O.; Jansen, J.M.; Burtis, C.A.; Overton, J.B.; Scott, C.D. - Clin. Chem. 18:829, 1972.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.
- Tietz Fundamentals of clinical chemistry - Burtis, C., Ashwood, E. (5th Edition) WB Saunders, 2001.

Oznaczenia

Następujące symbole są zastosowane na opakowaniach zestawów odczynników diagnostycznych.

 Ten produkt spełnia wymagania Dyrektywy Europejskiej 98/79 EC dla wyrobów medycznych używanych do diagnozy "in vitro"

 Autoryzowany przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej

 Wyrób do diagnostyki "in vitro"

 Zawartość wystarczająca dla <n> badań

 Użyć przed

 Ograniczenie dopuszczalnych temperatur

 Nie zamrażać

 Ryzyko biologiczne

 Objętość po rozpuszczeniu

 Zawartość

 numer serii

 Wytwórca

 Substancja szkodliwa

 Substancja żrąca

 Substancja drażniąca

 Przed użyciem zapoznać się z instrukcją

 Kalibrator

 Próba kontrolna

 Próba kontrolna dodatnia

 Próba kontrolna ujemna

 Numer katalogowy

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
PM-1102-156

 **Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina