

Uso previsto

Determinazione quantitativa dell'azoto ureico nel siero umano utilizzando gli analizzatori Yumizen C230 e Yumizen C240. Esclusivamente per fini diagnostici *in vitro*. **Solo su prescrizione.**

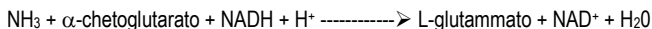
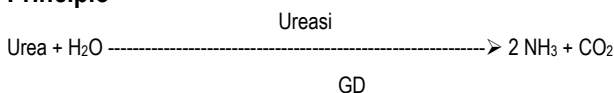
Interesse clinico

La rilevazione dell'azoto ureico nel siero è ampiamente utilizzata come test di screening della funzionalità renale. Effettuata congiuntamente alla determinazione della creatinina sierica, è utile nella diagnosi differenziale dei tre tipi di azotemia: prerenale, renale e post-renale.¹

Storia del metodo diagnostico

L'urea veniva rilevata con metodo diretto², che prevede la condensazione dell'urea con il diacetile a formare un cromogeno, e con metodo indiretto, dove l'ammoniaca viene misurata come prodotto dell'azione dell'ureasi sull'urea.³ Successivamente, l'ammoniaca è stata anche misurata con il reattivo di Nessler⁴ e la reazione di Berthelot.⁵ Nel 1965, Talke e Schubert hanno introdotto una procedura totalmente enzimatica che utilizza l'ureasi e la glutammato deidrogenasi.⁶ La procedura in oggetto si basa su una modifica del loro metodo.

Principio



L'urea viene idrolizzata dall'ureasi per produrre ammoniaca e anidride carbonica. L'ammoniaca liberata in presenza di NADH reagisce con l' α -chetoglutarato producendo glutammato. Durante la reazione, una quantità equimolare di NADH viene ossidata, determinando una diminuzione dell'assorbimento direttamente proporzionale alla concentrazione di azoto ureico nel campione.

Composizione dei reagenti

Concentrazioni dei reagenti: ureasi (canavalia ensiformis) >15.000 U/L, GLDH (bovino) >200 U/L, ADP >0,6 mM, α -chetoglutarato 3,4 mM, NADH >0,28 mM, tampone, stabilizzatori, sodio azide (0,28%) come conservante.

Preparazione dei reagenti

I reagenti sono pronti all'uso.

Conservazione dei reagenti

Conservare i reagenti R1 e R2 a 2-8°C. Se conservati seguendo le raccomandazioni, i reagenti sono stabili fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta.

Deterioramento dei reagenti

Non utilizzare il reagente se l'assorbimento del bianco è inferiore a 1,0 a 340 nm.

Precauzioni

- Il reagente è destinato esclusivamente a fini diagnostici *in vitro*.
- Evitare di ingerire il reagente, la tossicità non è ancora stata accertata.
- I reagenti contengono sodio azide (0,28%) come conservante. Il sodio azide può reagire con rame e piombo e formare un complesso metallo-azide esplosivo. Pertanto per smaltire i residui del reagente occorre diluirli con abbondante acqua.
- Tutti i campioni devono essere trattati secondo le buone pratiche di laboratorio, utilizzando opportune precauzioni descritte nel manuale CDC/NIH, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", 2ª ed., 1988, HHS n. (CDC) 88-8395.

Raccolta e conservazione dei campioni

- Si raccomanda di utilizzare campioni di siero.
- Non utilizzare plasma contenente anticoagulanti.
- Tutto il materiale che viene a contatto con il campione deve essere privo di tracce di ammoniaca e di metalli pesanti.⁷
- L'urea del siero resta stabile per settantadue ore se conservata in frigorifero a 2-8°C. I campioni di siero non refrigerati devono essere utilizzati nell'arco di otto ore.
- La raccolta dei campioni deve essere effettuata secondo le indicazioni del documento NCCLS M29-T2.⁸ Nessun metodo può offrire la totale certezza che i campioni di sangue umano non trasmettano infezioni. Pertanto, tutti i campioni di sangue devono essere considerati potenzialmente infettivi.

Interferenze

- L'azione dell'ureasi è inibita dal fluoro.
- I campioni con livelli anomali di ammoniaca forniscono valori falsamente elevati di BUN.
- Si è visto che livelli di bilirubina fino a 20 mg/dl hanno un'interferenza trascurabile (<2%) per questo esame.
- Livelli di emoglobina fino a 200 mg/dl hanno un'interferenza trascurabile (<5%) per questo esame.
NOTA: Il livello BUN era 46.0 mg/dl per lo studio della bilirubina e 46.3 mg/dl per lo studio dell'emoglobina.
- Per una rassegna completa delle interferenze farmacologiche si rimanda a Young, et al.⁹

Materiali in dotazione

Reagente enzimatico per azoto ureico (R1)

Reagente coenzimatico per azoto ureico (R2)

Materiali necessari non in dotazione

- Analizzatori Yumizen C230 / Yumizen C240
- Manuale utente per gli analizzatori Yumizen C230 / Yumizen C240
- Calibratore chimico, numero di catalogo C7506-50
- Controllo chimico, numero di catalogo C7592-100

Parametri di analisi

Analisi:	Urea Nitro	Sostanza chim.:	Azoto ureico
N. chim.:	206	Nome etichetta:	Azoto ureico
Tipo reazione:	T. fisso	Direz. reazione:	negativa
Lungh. d'onda prim.:	340 nm	Lungh. d'onda sec.:	670 nm
Decimale:	0	Tipo campione:	siero
T. bianco:		T. reazione:	2 7
Unità:	mg/dl	T. incubazione:	3

	Vol. campione	Aspirato	Diluyente	Vol. reagente	Diluyente
Standard:	2	ul	ul	R1: 200	ul
Decremento:		ul	ul	R2: 50	
Incremento:		ul	ul		

Intervallo linearità (standard):	0-150	Limite linearità:	
Intervallo linearità (decremento):		Esaurim. substrato:	
Intervallo linearità (incremento):		Assorb. bianco mix:	-40000 40000
Assorb. bianco R1:	-40000 40000	Stabilità in macchina:	30 Giomof
Risposta bianco	-40000 40000	Limite allarme reagente:	5
Doppia chim.:			

Controllo eff. prozona:		
Q1:	Q2:	Q3:
Q4:	PC:	ABS:

Risultato qualitativo:	
Intervallo:	Val. fuori norma:

Pendenza Offset:			
Pendenza	Offset	Unità	
1	0	mg/dL	

Tratt. preliminare:			
Vol. campione pretratt.:	ul	Vol. reagente pretratt.:	ul

Intervallo rif.:					
Tipo campione:	Sesso:	Intervallo età:	Intervallo rif.:	Intervallo critico:	Unità:

Kit reagenti Azoto ureico (BUN) Pointe

Parametri di configurazione della calibrazione

Analisi chim.				
Urea Nitro				
Impostazioni calibr.				
Modello mat.: lineare 2 punti				
Fattore: Repliche: 2				
Limiti accettabilità				
T. calibr.: 336 h				
Diff. pendenza: DS:				
Sensibilità: Ripetibilità: *Def. utente				
Coeff. deter.:				
Calibr. autom.				
T. calibr.				

Calibratore	Conc.	Pos.	N. lotto:
acqua	0,0	W	
Chem Cal	*	*	

Limitazioni

I campioni con valori superiori a 150 mg/dl andrebbero diluiti 1:1 con soluzione fisiologica allo 0,9%, nuovamente analizzati e i risultati andrebbero moltiplicati per 2.

Calibrazione

Utilizzare un calibratore per siero con tracciabilità NIST. La procedura va calibrata seguendo le istruzioni del produttore dello strumento. Se i risultati del controllo risultano fuori range, sarà necessario effettuare una ricalibrazione.

Calcolo (esempio)

$(A_1 - A_2) =$ Variazione di assorbanza tra letture

$\frac{(A_1 - A_2) \text{ camp.}}{(A_1 - A_2) \text{ stand.}} \times \text{concentrazione} = \text{BUN (mg/dl)}$

$(A_1 - A_2) \text{ stand.}$ standard

Esempio: Se il campione dà $A_1 = 1,5$ e $A_2 = 1,0$,
lo standard dà $A_1 = 1,5$ e $A_2 = 0,9$ e
la concentrazione dello standard = 20 mg/dl allora:

$$\frac{(1,5 - 1,0)}{(1,5 - 0,9)} = 0,5 \times 20 = 17 \text{ mg/dl}$$

NOTA: Per convertire i risultati in unità SI moltiplicare per 10 trasformando di in litri e dividere per 28, peso molecolare dell'azoto.

Esempio: 17 mg/dl $\times 10/28 = 6,06$ mmol/L.

Per convertire mg/dl di azoto ureico in mmol di urea/L, moltiplicare il valore in mg/dl dell'azoto ureico per 0,357.

Per convertire mg/dl di azoto ureico in mg/dl di urea, moltiplicare il valore in mg/dl dell'azoto ureico per 2,14.

Controllo qualità

La bontà della reazione va monitorata utilizzando sieri di controllo con valori normali e patologici noti di BUN. I controlli vanno eseguiti in ogni turno in cui si effettuano analisi dell'azoto ureico. Si raccomanda che ogni laboratorio stabilisca la frequenza interna dei controlli. Il controllo qualità richiesto va eseguito in conformità con le normative locali, statali e/o federali o con i requisiti di accreditamento.

Valori attesi

7-18 mg/dl⁷

Si raccomanda che ogni laboratorio stabilisca il proprio intervallo di riferimento per la procedura.

Prestazioni

- Intervallo di analisi: 0-150 mg/dl. I campioni superiori a 150 mg/dl vanno diluiti con pari volume di soluzione fisiologica e nuovamente analizzati. Moltiplicare i risultati per 2.
- Comparazione: È stato condotto uno studio comparativo tra l'impiego dell'analizzatore Yumizen serie 200 e di un analizzatore simile per l'applicazione del metodo. Si è ottenuto un coefficiente di correlazione di 0,986 e un'equazione di regressione $y = 0,95x + 0,6$.
- Precisione: gli studi sulla precisione sono stati condotti seguendo modifica delle linee guida contenute nel documento EP5-T2 dell'istituto NCCLS e utilizzando un analizzatore Yumizen serie 200.¹⁰

Intra saggio			Inter-giorn.		
Media	D.S.	C.V.%	Media	D.S.	C.V.%
15,6	0,5	3,2	14,1	0,8	5,7
55,3	1,2	2,1	51,1	1,8	3,5

- Sensibilità: La sensibilità del reagente liquido per BUN è stata studiata leggendo la variazione dell'assorbanza a 340 nm per un campione di soluzione fisiologica e per campioni di siero con concentrazioni note. Sono state eseguite dieci repliche per ogni campione. I risultati di questa indagine hanno evidenziato che, sull'analizzatore utilizzato, il reagente liquido per BUN mostrava una deriva minima o nulla sul campione zero. Nelle condizioni di reazione descritte, 1mg/dl di BUN dà un valore di abs/min. pari a 0,003.

Riferimenti bibliografici

- Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, Philadelphia W.B. Saunders (1976).
- Fearon, W.R., Biochem J. 331:902 (1939).
- Marshall, E.K., Jr., J. Biol. Chem. 15:487 (1913).
- Gentzkow, C.J., J. Biol. Chem. 143:531 (1952).
- Fawcett, J.K., Scott, J.E., J. Clin. Path. 13:156 (1960).
- Talke, H., Schubert, G.E., Klin. Wschr. 43:174 (1965).
- Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, Philadelphia W.B. Saunders, p991 (1976).
- NCCLS document "Protection of Laboratory Workers from Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue", 2nd Ed. (1991).
- Young, D.S., et al, Clin. Chem. 21:1D (1975).
- Documento NCCLS "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2nd Ed. (1992).

Legenda

Utilizzare entro (aaaa-mm-gg)	LOT Codice lotto e gruppo
REF N. catalogo	Fabbricante
IVD Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>	Limiti di temperatura
Consultare il manuale utente	Rx Only: utilizzare solo su prescrizione

REF 12-B7552-150	Prodotto da HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand 5449 Research Drive Canton, MI 48188		
-------------------------	---	--	--

Prodotto da HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand 5449 Research Drive, Canton, MI 48188	
Rappresentante autorizzato per l'Europa: Obelis s.a. Boulevard Général Wahis 53 1030 Bruxelles, BELGIO tel: (32)2.732.59.54 fax:(32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net	

Reagenti certificati

I reagenti Pointe sono certificati per essere stati prodotti conformemente ai parametri specificati. Se entro la data di scadenza un reagente Pointe dovesse risultare non conforme alle specifiche, sarà prontamente sostituito senza alcun addebito.