

Usò previsto

Determinazione quantitativa dell'azoto ureico nel siero utilizzando l'analizzatore Yumizen C560. **Solo su prescrizione.**

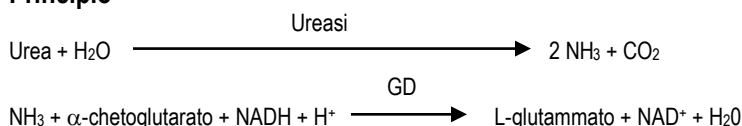
Interesse clinico

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: pre-renale, renale e post-renale.¹

Storia del metodo diagnostico

L'urea veniva rilevata con metodo diretto², che prevede la condensazione dell'urea con 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 è 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'assorbanza 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, pH 7,8 \pm 0,1, 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. Studi condotti dal produttore hanno dimostrato che, dopo essere stati inseriti nell'apposito caricatore refrigerato (2-10°C), i reagenti restano stabili per 30 giorni; tuttavia, la stabilità del reagente può variare in base alle condizioni dei singoli laboratori.

Deterioramento dei reagenti

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

Precauzioni e pericoli

1. Il reagente è destinato esclusivamente a fini diagnostici *in vitro*.
2. Evitare di ingerire il reagente, la tossicità non è ancora stata accertata.
3. 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 residui del reagente, occorre diluirli con abbondante acqua.
4. 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.

Pericoli:

R1: Classificazione dei pericoli: Tossicità specifica per organi bersaglio – esposizione singola; apparato respiratorio (categoria 3)

Indicazioni di pericolo: H335: Può irritare le vie respiratorie.

Consigli di prudenza: Prevenzione: P261 Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol. P271 Utilizzare soltanto all'aperto o in luogo ben ventilato. **Reazione:** P312 In caso di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI/un medico. P304 + P340 IN CASO DI INALAZIONE: Trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione. **Conservazione:** P403 + P233 Conservare in luogo ben ventilato. Tenere il recipiente ben chiuso. **Smaltimento:** P501: Smaltire il prodotto nella rete fognaria dopo averlo diluito con abbondante acqua, se in conformità con le normative locali.

R2: Classificazione dei pericoli: Tossicità acuta, cutanea (categoria 4)

Indicazioni di pericolo: H312: Nocivo per contatto con la pelle.

Consigli di prudenza: Prevenzione: P280 Indossare guanti/indumenti protettivi/proteggere gli occhi/proteggere il viso. **Reazione:** P312 In caso di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI/un medico. P363 Lavare gli indumenti contaminati prima di indossarli nuovamente. P302 + P352 IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: lavare abbondantemente con acqua. **Smaltimento:** P501: Smaltire il prodotto nella rete fognaria dopo averlo diluito con abbondante acqua, se in conformità con le normative locali. **Consultare la Scheda di sicurezza del prodotto (SDS-B7552) disponibile chiamando il numero: 1-734-487-8300.**

Raccolta e conservazione dei campioni

1. Si raccomanda di utilizzare campioni di siero.
2. Non utilizzare plasma contenente anticoagulanti.
3. Tutto il materiale che viene a contatto con il campione deve essere privo di tracce di ammoniaca e di metalli pesanti.⁷
4. 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.
5. 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.



Parola segnaletica:
Attenzione



Parola segnaletica:
Attenzione

Kit reagenti Azoto ureico (BUN) Pointe

Interferenze

1. L'azione dell'ureasi è inibita dal fluoro.
2. I campioni con livelli anomali di ammoniaca forniscono valori falsamente elevati di BUN.
3. Si è visto che livelli di bilirubina fino a 20 mg/dl hanno un'interferenza trascurabile (<2%) per questo esame.
4. Livelli di emoglobina fino a 200 mg/dl hanno un'interferenza trascurabile (<5%) per questo esame.
NOTA: Il livello di BUN era di 46,0 mg/dl nello studio sul comportamento della bilirubina e di 46,3 mg/dl nello studio dell'emoglobina.
5. 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

1. Analizzatore Yumizen C560
2. Manuale utente per l'analizzatore Yumizen C560
3. Calibratore chimico, numero di catalogo C7506-50
4. Controllo chimico, numero di catalogo C7592-100

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 il controllo chimico Pointe (numero di catalogo: C7506-50). La procedura va calibrata seguendo le istruzioni del produttore dello strumento. Se i risultati del controllo risultano fuori range, potrebbe essere necessario effettuare una ricalibrazione. Gli studi sulla stabilità della calibrazione condotti dal produttore mostrano che, in condizioni operative classiche, la curva di calibrazione resta stabile per almeno 14 giorni.

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

1. Intervallo di analisi: 1-150 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.
2. Comparazione: È stato condotto uno studio comparativo tra l'impiego dell'analizzatore Yumizen C560 e di un analizzatore simile per l'applicazione del metodo. I risultati sono riportati nella tabella sottostante:

Metodo	BUN
N	84
BUN medio (mg/dL)	27,7
Intervallo (mg/dL)	5-149
Deviazione standard	29,0
Analisi di regressione	$y = 0,994x - 0,7$
Coefficiente di correlazione	0,9962

3. Precisione: gli studi sulla precisione sono stati eseguiti seguendo una modifica delle linee guida contenute nel documento EP5-T2 dell'istituto NCCLS e utilizzando l'analizzatore Yumizen C560.¹⁰

Campione	Intra-giorn.			Totale		
	BASSA	MEDIA	ALTA	BASSA	MEDIA	ALTA
N	20	20	20	40	40	40
Media	12,7	47,4	131,9	13,0	48,8	134,3
Deviazione standard	0,7	0,7	0,9	0,8	1,7	2,5
Coefficiente di variazione (%)	5,2%	1,4%	0,6%	7,2%	2,5%	1,9%

4. Sensibilità: 2SD limite di rilevabilità (95% conf) = 1 mg/dL

Riferimenti bibliografici

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

10. Documento NCCLS "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2nd Ed. (1992).

PARAMETRI CHIMICI

Analisi chim.:	Urea Nitro	N.	206	Tipo campione:	siero
Denominazione:	Azoto ureico (liquido)			Nome etichetta:	Urea Nitro
Tipo reazione:	T.fisso			Direzione reazione:	negativa
Lungh. d'onda prim.:	340			Lungh. d'onda sec.:	660
Unità:	mg/dL			Decimale	0
T. bianco:	47 49			T. reazione:	55 63
	Vol. campione	Aspirato	Diluyente	Vol. reagente	Diluyente
Standard:	1.5 ul	--- ul	--- ul	R1:	150 ul --- ul
Decremento :	--- ul	--- ul	--- ul	R2:	--- ul -- ul
Incremento:	--- ul	--- ul	--- ul	R3:	--- ul -- ul
	<input type="checkbox"/> Bianco camp.	<input checked="" type="checkbox"/> Ripetiz. automat.		R4:	--- ul --- ul
Regolazione pendenza/ Offset					
Pendenza: 1		Offset: 0			

Intervallo linearità (standard)	1	150	Limite linearità:
Intervallo linearità (decremento)	---	---	Esaurim. substrato:
Intervallo linearità (incremento)	---	---	Assorb bianco mix:
Assorb bianco R1:	---	---	T. apertura
Risp. bianco:	---	---	Limite allarme reag.:
Doppia chim.:			<input type="checkbox"/> Est. Lineare enzimi
<input type="checkbox"/> Controllo eff. prozona		<input type="radio"/> Controllo livello	<input type="radio"/> Aggiunta antigene
Q1:	Q2:	Q3:	Q4:
PC:	ABS:		

Kit reagenti Azoto ureico (BUN) Pointe

PAMETRI DI CALIBRAZIONE

Definizione calibratore						
Calibratore:	*	N. lotto:			*	
Data di scadenza:	*					
Caricatore		Pos.				
Caricatore campioni 1	*					
Caricatore campioni 2						
Caricatore campioni 3						
Reagente/calibrazione						
<u>Calibratore</u>	<u>Pos.</u>	<u>N. lotto</u>	<u>Data scad.</u>	<u>Analisi</u>	<u>Conc.</u>	<u>Unità</u>
Acqua	W	*	*	BUN	0	mg/dL
Calibratore chim.	*	*	*	BUN	*	mg/dL
Configurazione calibrazione						
Analisi chim.:	Urea Nitro					
<u>Impostazioni calibr.</u>						
Modello mat.:	lineare a 2 punti					
Fattore:	Repliche: 2					
<u>Limiti accettabilità</u>						
T. calibr.:	336	h				
Diff. pendenza:	---	DS:		---		
Sensibilità:	---	Ripetibilità:		---		
Coeff. deter.:	---					
<u>Calibr. autom.</u>						
<input type="checkbox"/> Cambio flacone	<input type="checkbox"/> Cambio lotto	<input type="checkbox"/> Ora cal.				

_Si raccomanda di analizzare quotidianamente due livelli di materiale di controllo.

* Indica un parametro definito dall'utente.

REF 14-B7552-600



Prodotto da HORIBA Instruments- Pointe Brand
5449 Research Drive Canton, MI 48188



Reagenti certificati

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

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

Legenda



Utilizzare entro (aaaa-mm-gg)



Codice lotto e gruppo



N. catalogo



Fabbricante



Limitazioni di temperatura



Consultare il manuale di istruzioni