

UPOTREBA

Reagens se koristi za određivanje koncentracije uree u serumu, plazmi i urinu.

METODA

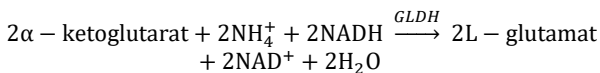
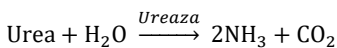
Enzimski, spektrofotometrijski metod.

KLINIČKI ZNAČAJ

Urea je glavni metabolički produkt jedinjenja koja sadrže azot. Povišena koncentracija uree se nalazi kod bolesnika sa smanjenom funkcijom bubrega. Visoke koncentracije uree ukazuju na hroničnu, a naročito na akutnu renalnu insuficijenciju. Smanjena koncentracija uree ukazuje na dukotrajno gladovanje i teška oštećenja jetre.

PRINCIP ODREĐIVANJA

Katalitičkim dejstvom ureaze, urea se hidrolizuje do amonijaka i ugljenik(IV)-oksida. Nastali amonijak, u prisustvu glutamat dehidrogenaze (GLDH), sa α -ketoglutaratom i NADH gradi glutamat. Brzina oksidacije NADH direktno zavisi od koncentracije uree ¹:

**REAGENSI**

Urea, Ref: URE-250 se sastoji od 2 reagensa i 1 standarda:

Reagens 1	2 x 100 mL
Reagens 2	1 x 50 mL
Standard uree	1 x 5 mL

SASTAV RADNOG REAGENSA

Rg.1 NADH	0,32 mmol/L
Rg.2 TRIS pufer pH 7,55	80 mmol/L
Ureaza	> 25 KU/L
GLDH	> 1 KU/L
ADP	0,6 mmol/L
α - ketoglutarat	10,0 mmol/L
Standard uree	10 mmol/L

UPOZORENJE

1. Koristiti isključivo za dijagnostiku *in vitro*.
2. Voditi računa o propisanoj eliminaciji otpada. Ako se odbacuje u kanalizaciju, isprati velikom količinom vode.
3. Da bi se izbegla kontaminacija koristiti čist pribor ili laboratorijsku opremu za jednokratnu upotrebu.

PRIPREMA REAGENSA

Start uzorkom : radni reagens se priprema mešanjem 4 zapremine Reagens 1 i jedne zapremine Reagens 2.

Start supstratom : Reagensi su spremni za upotrebu.

STABILNOST REAGENSA

Start uzorkom : radni reagens stabilan je 90 dana ako se čuva na 2 - 8°C.

Start supstratom : reagensi u originalnom pakovanju su stabilni do isteka označenog roka ako se čuvaju na propisanoj temperaturi.

UZORCI

Kao uzorak koristiti serum ili plazmu pripremljenu sa heparinom. Urin razblaziti 100 puta sa destilovanom vodom.

Stabilnost u serumu :	7 dana na 20-25 °C
	7 dana na 4-8 °C
	12 meseci na -20 °C.
Stabilnost u urinu :	2 dana na 20-25 °C
	7 dana na 4-8 °C
	1 mesec na -20 °C.

DODATNI POTREBNI MATERIJALI

Opšta laboratorijska oprema i rastvori

- Multikalibrator	Ref: KLB-012	4x3 mL
- Kontrolni serum N	Ref: KSN-020	4x5 mL
- Kontrolni serum P	Ref: KSP-020	4x5 mL

ANALITIČKA PROCEDURA

Analički parametri testa:

Talasna dužina : 1°/2°	340/380 nm
Kiveta :	1 cm
Temperatura :	30, 37° C
Odnos : uzorak / reagens	1 / 100
Reakcija :	Fixed time
Inicijalna A reagensa :	> 1,000 Abs

Start uzorkom - pipetirati u epruvete:

	Uz	St
Uzorak	10 µL	-
Standard	-	10 µL
Radni reagens	1000 µL	1000 µL

Promešati reakcionu smešu i izmeriti inicijalnu apsorbanciju posle 30 sekundi (A₁). Merenje apsorbancije ponoviti posle 1 minuta (A₂) na 340 nm.

Start supstratom - pipetirati u epruvete:

	Uz	St
Uzorak	10 µL	-
Standard	-	10 µL
Reagens 1	800 µL	800 µL

Promešati, a zatim dodati:

Reagens 2	200 µL	200 µL
-----------	--------	--------

Promešati reakcionu smešu i izmeriti inicijalnu apsorbanciju posle 30 sekundi (A₁). Merenje apsorbancije ponoviti posle 1 minuta (A₂) na 340 nm.

KALIBRACIJA

Za kalibraciju koristiti standard uree ili multikalibrator

Tip kalibracione krive : Linearan

Rekalibraciju vršiti :

- nakon promene serije reagensa
- ukoliko su dobijene vrednosti kontrola izvan prihvatljivog opsega

KONTROLA KVALITETA

Za kontrolu kvaliteta preporučuje se korišćenje kontrolnih seruma.

IZRAČUNAVANJE

$$\Delta A = \Delta A_2 - \Delta A_1$$

$$c = \frac{\Delta A_{uz}}{\Delta A_{st}} \cdot c_{ST} \text{ (mmol/L)}$$

REFERENTNE VREDNOSTI**Serum/plazma**

Odrasli mmol/L

Muškarci < 50 god 3,2 – 7,3

Muškarci > 50 god 3,0 – 9,2

Žene < 50 god 2,6 – 6,7

Žene > 50 god 3,5 – 7,2

Deca mmol/L

1 – 3 god 1,8 – 6,0

4 – 13 god 2,5 – 6,0

14 – 19 god 2,9 – 7,5

Urin mmol/ 24 h

Odrasli 333 – 538

ANALITIČKE KARAKTERISTIKE TESTA

Parametri validacije su izračunati na osnovu rezultata ispitivanja na analizatorima Roche 902 i Abbott –Alcion.

Opseg merenja

Od 0,3 do 30,0 mmol/L uree.

Ukoliko je koncentracija uree veća od 30,0 mmol/L razblažiti uzorak

1+ 1 sa fiziološkim rastvorom i rezultat pomnožiti sa 2.

Limit detekcije (LOD) i limit kvantifikacije (LOQ)

LoD = 0,1 mmol/L

LoQ = 0,3 mmol/L

Osetljivost određivanja (S)

$S = A/c = 0,01033 \Delta \text{Abs/min po mmol/L}$.

Interferencije

Na određivanje uree ne utiču sledeći parametri:

bilirubin $c < 1000 \mu\text{mol/L}$ (58,5 mg/dL)

hemoglobin $c < 10,0 \text{ g/L}$

trigliceridi $c < 20,0 \text{ g/L}$.

Preciznost određivanja

Reproducibilnost unutar serije

Uzorak 1 Xsr = 7,06 Sd = 0,21 KV = 2,98 %

Uzorak 2 Xsr = 23,86 Sd = 0,68 KV = 2,85 %

Reproducibilnost između serija

Uzorak 1 Xsr = 7,08 Sd = 0,22 KV = 3,09 %

Uzorak 2 Xsr = 23,81 Sd = 0,67 KV = 2,92 %

Korelacija

Urađena je komparativna analiza² između metode firme BIOANALYTICA i komercijalnog testa druge firme na 45 uzorka humanog seruma. Dobijeni su sledeći parametri :

Linearna regresija

$y = 0,99328 x - 0,006$

$r = 0,9986$

LITERATURA

1. N.W. Tietz, Textbook of Clinical Chemistry, W.B.Saunders Company, Philadelphia, 1986.
2. H. Passing, W.A. Bablok, A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part I.J Clin Chem and Clin Biochem 21(11), 709-720, 1983.



Bioanalytica d.o.o.
Agostina Neta 84/2, Beograd,
Srbija
www.bioanalytica.rs



Bioscience Medical SL
Velazquez 126, 7AB,
Madrid, Spain



Broj rešenja o upisu : _____