

UREA liquiUV

Método GLDH

Método completamente enzimático para determinaciones cinéticas de urea

Presentación del estuche

[REF] ⁶	10521	8 x 50ml	Estuche completo
	10104	9 x 3ml	Estándar

[IVD]

Método^{1,2,3}

La urea es hidrolizada en presencia de agua y ureasa para producir amonio y dióxido de carbono. El amonio producido en esta reacción se combina con 2-oxoglutarato y NADH en presencia de glutamato-deshidrogenasa (GLDH) para formar glutamato y NAD⁺. La prueba ha sido mejorada de forma que la GLDH es la enzima límite. La disminución de la absorbancia es proporcional a la concentración de urea dentro de los intervalos de tiempo dados. Ya que la prueba cinética es muy rápida, ha sido diseñada para ser realizada preferiblemente en analizadores.

Principio de la reacción



Contenidos

[ENZ]	8 x 40 ml Enzimas	
	Buffer Tris (pH 7,8)	120 mmol/l
	ADP	750 mmol/l
	Ureasa	≥ 40 kU
	GLDH	≥ 0,4 kU
[SUB]	8 x 10 ml Substrato	
	2-Oxoglutarato	25 mmol/l
	NADH	1,2 mmol/l
[STD]	1 X 3 ml Estándar	
	Urea	80 mg/dl ó 13,3 mmol/l

Preparación del reactivo

[ENZ] y **[STD]** están listos para usar y se pueden aplicar directamente en analizadores automatizados (procedimiento partida con substrato).

El **reactivo de trabajo** (procedimiento partida con muestra) se prepara mezclando 4 partes de **[ENZ]** con 1 parte de **[SUB]**.

Ej: 40 ml **[ENZ]** + 10 ml **[SUB]**.

Estabilidad del reactivo

Cuando se almacenan los reactivos entre 2...8°C, se mantienen estables hasta la fecha de vencimiento, aún después de abrir. Se debe evitar la contaminación de los reactivos.

El **reactivo de trabajo** se mantiene estable por 5 días entre 15...25°C y por 4 semanas entre 2...8°C.

Muestra

Suero, plasma, excepto plasma heparinado de amonio, ó orina. Diluya la orina 1 + 100 con agua destilada (resultados X 101)

Ensayo

Longitud de onda:	340nm, Hg 334 nm, 365 nm
Paso óptico:	1 cm
Temperatura:	25°C, 30°C ó 37°C
Medición:	Contra blanco de reactivo (Br). Sólo se necesita un blanco de reactivo por serie. Cinética de 2 puntos.

Valores de referencia^{4,5}

Suero: 10 - 50 mg/dl	ó	1,7 - 8,3 mmol/l
Orina: 20 - 35 g/24h	ó	333 - 583 mmol/24h

Interferencias

La prueba no es influenciada por hemoglobina hasta 500 mg/dl, triglicéridos hasta 2000 mg/dl, bilirrubina hasta 60 mg/dl, glucosa hasta 500 mg/dl y ácido ascórbico hasta 30 mg/dl.

Esquema de pipeteo

Por favor utilice únicamente el estándar recomendado por HUMAN (dentro del estuche o disponible por separado **[REF]** 10104)

Procedimiento partida con substrato

Pipetear en cubetas	Blanco de reactivo (Br)	Muestra ó [STD]
Muestra / [STD] [ENZ]	--- 1000 µl	10 µl 1000 µl
Mezcle, incube por 1 minuto aproximadamente.		
[SUB]	250 µl	250 µl
Mezcle, lea la absorbancia de la muestra/ [STD] después de 30 segundos (A ₁). Active el cronómetro y lea exactamente 1 minuto después (A ₂). Calcule la diferencia de absorbancia: $\Delta A_{\text{Muestra}/\text{[STD]}} = (A_2 - A_1) - \Delta A_{\text{Br}}$		

Procedimiento partida con muestra

Pipetee en las cubetas	Blanco de reactivo (Br)	Muestra ó [STD]
Muestra / [STD] Reactivo de trabajo	--- 1000 µl	10 µl 1000 µl
Mezcle, lea la absorbancia de la muestra/ [STD] después de 30 segundos (A ₁). Active el cronómetro y lea exactamente 1 minuto después (A ₂). Calcule la diferencia de absorbancia: $\Delta A_{\text{Muestra}/\text{[STD]}} = (A_2 - A_1) - \Delta A_{\text{Br}}$		

Calculos de la concentration de urea

Suero, plasma

$$\begin{array}{l} C = 80 \times \Delta A_{\text{muestra}} / \Delta A_{\text{[STD]}} \quad [\text{mg/dl}] \quad \text{ó} \\ C = 13,3 \Delta A_{\text{muestra}} / \Delta A_{\text{[STD]}} \quad [\text{mmol/l}] \end{array}$$

Orina

$$\begin{array}{l} C = 80,8 \times \Delta A_{\text{muestra}} / \Delta A_{\text{[STD]}} \quad [\text{mg/dl}] \quad \text{ó} \\ C = 1340 \times \Delta A_{\text{muestra}} / \Delta A_{\text{[STD]}} \quad [\text{mmol/l}] \end{array}$$

Factores de conversion para BUN / urea

$$C (\text{BUN}) = 0,466 \times C (\text{urea}) \quad C (\text{urea}) = 2,14 \times C (\text{BUN})$$

Características de la ejecución

Linealidad

La prueba es lineal hasta 300 mg/dl ó 50 mmol/l.

La linealidad depende del analizador utilizado.

Muestras con concentraciones superiores deben diluirse 1 + 1 con agua destilada y se debe repetir la prueba. Multiplique los resultados por 2.

Los datos típicos de ejecución de la prueba pueden ser encontrados en el informe de verificación, accesible vía www.human.de/data/gb/vr/SU-URLUV.pdf ó www.human-de.com/data/gb/vr/SU-URLUV.pdf

Control de calidad

Se pueden emplear todos los sueros control con valores de urea determinados por este método.

Recomendamos el uso de nuestro suero control HUMATROL de origen animal ó nuestros SERODOS de origen humano.

Automatización

Proposiciones para la aplicación de los reactivos sobre analizadores están disponibles sobre demanda. Cada laboratorio tiene que validar la aplicación en su propia responsabilidad.

Notas

Todos los reactivos contienen azida de sodio (0,095%) como preservativo. No ingerir, evitar el contacto con la piel y las membranas mucosas.

Literatura

1. Kassirer, J. P., New Eng. J. Med. **285**, 385 (1971)
2. Talke, H., Schubert, G. E., Klin. Wochenschr. **43**, 174 (1965)
3. Tietz, N. W., Fundamentals of Clinical Chemistry, 3rd. Edition (1987), 676 - 679, W. B. Saunders Company Philadelphia
4. MacKay, E. M., MacKay, L. L., J. Clin. Invest. **4**, 295 (1927)
5. Sarre, H., Nierenkrankheiten, Georg Thieme Verlag Stuttgart (1959)
6. ISO 15223 Medical devices - Symbols to be used with medical device labels, labelling and information to be supplied.

SU-URLUV
INF 1052101 E
08-2002-5



Human Gesellschaft für Biochemica und Diagnostica mbH
Max-Planck-Ring 21 - D-65205 Wiesbaden - Germany
Telefon: +49 6122 9988 0 - Telefax: +49 6122 9988 100 - eMail: human@human.de