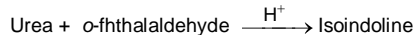


Quantitative determination of urea IVD

Store at 2-8°C

PRINCIPLE OF THE METHOD

Urea in the sample reacts with o-phthalaldehyde in acid medium forming a coloured complex that can be measured by spectrophotometry:



The intensity of the color formed is proportional to the urea concentration in the sample¹.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Urea is the final result of the metabolism of proteins; it is formed in the liver from their destruction.

It can appear the urea elevated in blood (uremia) in: diets with excess of proteins, renal diseases, heart failure, gastrointestinal hemorrhage, dehydration or renal obstruction^{1,4,5}.

Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

REAGENTS

R 1	o-Phthalaldehyde	4.8 mmol/L
R 2	Borate solution	87 mmol/L
	Sulphuric acid	3 mol/L
UREA CAL	Urea aqueous primary standard 50 mg/dL	

PRECAUTION

R2: Corrosive (C). R35: Causes severe burns. S26: In case of contact with eyes, rinse immediately with plenty of water and sep medical advice. S30: Never add water to this product. S45: In case of accident or if you feel unwell, sep medical advice immediately.

PREPARATION

All the reagents are ready to use.

STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C, protected from light and contaminations prevented during their use.

Do not use reagents over the expiration date.

Signs of reagent deterioration:

- Presence of particles and turbidity.
- Blank absorbance (A) at 510 nm \geq 0.20.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spectrophotometer or colorimeter measuring at 510 nm.
- Matched cuvettes 1.0 cm light path.
- General laboratory equipment^(Note 1)

SAMPLES

- Serum or heparinized plasma¹: Do not use ammonium salts or fluoride as anticoagulants.

- Urine¹: Dilute sample 1/50 in distilled water. Mix. Multiply the results by 50 (dilution factor). Preserve urine samples at pH < 4.

Urea is stable at 2-8°C for 5 days;

PROCEDURE AND CALCULATIONS

- Assay conditions:
Wavelength: 510 (500-550) nm
Cuvette: 1 cm. light path
Temperature: 37°C
- Adjust the instrument to zero with distilled water.

A) Kinetic method

- Pipette into a cuvette:

	Blank	Standard	Sample
R 1 (mL)	1.0	1.0	1.0
Standard ^(Note 2-3) (μL)	--	50	--
Sample (μL)	--	--	50

- Mix, wait 1 minute and add:

R 2 (mL)	1.0	1.0	1.0
----------	-----	-----	-----

- Mix, incubate at 37°C and read the absorbance after 1 minute (A₁) and after 2 minutes (A₂).

- Calculate the increase of the absorbance $\Delta A = A_2 - A_1$.

Calculations

$$\frac{(\Delta A)_{\text{Sample}}}{(\Delta A)_{\text{Calibrator}}} \times 50 \text{ (Calibrator conc.)} = \text{mg/dL urea in the sample}$$

B) End point

- Pipette into a cuvette:

	Blank	Standard	Sample
R 1 (mL)	1.0	1.0	1.0
Standard ^(Note 2-3) (μL)	--	25	--
Sample (μL)	--	--	25

- Mix, and add:

R 2 (mL)	1.0	1.0	1.0
----------	-----	-----	-----

- Mix and incubate 15 min at 37°C.

- Read the absorbance (A) against the Blank.

Calculations

$$\frac{(A)_{\text{Sample}}}{(A)_{\text{Calibrator}}} \times 50 \text{ (Calibrator conc.)} = \text{mg/dL urea in the sample}$$

10 mg/L urea BUN divided by 0.466 = 21 mg/L urea = 0.36 mmol/L urea¹.

Conversion factor: mg/dL x 0.1665 = mmol/L.

QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures: SPINROL H Normal and Pathologic (Ref. 1002120 and 1002210).

If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and calibrator for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

REFERENCE VALUES¹

Serum : 15- 45 mg/dL (2.49-7.49 mmol/L)

Urine : 20 - 35 gr/24 h.

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Measuring range: From detection limit of 0.70 mg/dL to linearity limit of 200 mg/dL.

If the results obtained were greater than linearity limit, dilute the sample 1/2 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 2.

Precision:

	Intra-assay (n=20)		Inter-assay (n=20)	
Mean (mg/dL)	43.2	145	41.9	147
SD	1.51	1.10	0.80	2.83
CV (%)	3.49	0.76	1.92	1.91

Sensitivity: 1 mg/dL = 0.00459 A.

Accuracy: Results obtained using SPINREACT reagents (y) did not show systematic differences when compared with other commercial reagents (x).

The results obtained using 50 samples were the following:

Correlation coefficient (r): 0.9884

Regression equation: $y=0.975x + 0.6$

The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

INTERFERENCES

It is recommended to use heparin as anticoagulant. Do not use ammonium salts or fluoride¹.

A list of drugs and other interfering substances with urea determination has been reported by Young et. al^{2,3}.

NOTES

- UREA CAL: Proceed carefully with this product because due its nature it can get contaminated easily.
- Glassware and distilled water must be free of ammonia and ammonium salts¹.
- Calibration with the aqueous standard may cause a systematic error in automatic procedures. In these cases, it is recommended to use a serum Calibrator.
- Use clean disposable pipette tips for its dispensation.
- SPINREACT has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.**

BIBLIOGRAPHY

- Kaplan A. Urea. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1257-1260 and 437 and 418.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PACKAGING

Ref. 1001323		R1, R2: 1 x 50 mL, CAL: 1 x 2 mL.
Ref. 1001325	Cont.	R1, R2: 1 x 250 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref. 1001326		R1, R2: 1 x 100 mL, CAL: 1 x 2 mL

Determinación cuantitativa de urea IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

La urea presente en la muestra reacciona con el o-ftalaldehído en medio ácido originando un complejo coloreado que puede cuantificarse espectrofotométricamente:



La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de urea en la muestra ensayada¹.

SIGNIFICADO CLÍNICO

La urea es el resultado final del metabolismo de las proteínas; se forma en el hígado a partir de su destrucción.

Puede aparecer la urea elevada en sangre (uremia) en dietas con exceso de proteínas, enfermedades renales, insuficiencia cardíaca, hemorragias gástricas, hipovolemia y obstrucciones renales^{1,4,5}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R 1	o-Ftalaldehído	4,8 mmol/L
R 2	Solución borato	87 mmol/L
	Ácido sulfúrico	3 mol/L
UREA CAL	Patrón primario acuoso de Urea 50 mg/dL	

PRECAUCIONES

R2: **Corrosivo (C)**. R35: Provoca quemaduras graves. S26: En caso de contacto con los ojos, lávese inmediata y abundantemente con agua y acúdate a un médico. S30: No echar jamás agua a este producto. S45: En caso de accidente o malestar, acúdate inmediatamente al médico (si es posible, muéstrele la etiqueta).

PREPARACIÓN

Todos los reactivos están listos para su uso.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 510 nm $\geq 0,20$.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 510 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio^(Nota 1).

MUESTRAS

- Suero o plasma heparinizado¹: No usar sales de amonio o fluoruro como anticoagulantes.

- Orina¹: Diluir la muestra al 1/50 en agua destilada. Mezclar. Multiplicar el resultado obtenido por 50 (factor de dilución). Evitar el crecimiento bacteriano, manteniendo el pH < 4.

La urea es estable 5 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO Y CÁLCULOS

- Condiciones del ensayo:
Longitud de onda: 510 nm (500-550)
Cubeta: 1 cm paso de luz
Temperatura : 37°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.

A) Cinética

- Pipetear en tubos de ensayo:

	Blanco	Patrón	Muestra
R 1 (mL)	1,0	1,0	1,0
Patrón ^(Nota2-3) (µL)	--	50	--
Muestra (µL)	--	--	50

- Mezclar e incubar 1 minuto y añadir:

R 2 (mL)	1,0	1,0	1,0
----------	-----	-----	-----

- Mezclar, incubar a 37°C y leer las absorbancias a 1 minuto (A₁) y a los 2 minutos (A₂).
- Calcular el incremento de la absorbancia $\Delta A = A_2 - A_1$.

Cálculos

$$\frac{(\Delta A) \text{Muestra}}{(\Delta A) \text{Calibrador}} \times 50 \text{ (Conc. Calibrador)} = \text{mg/dL de urea en la muestra}$$

B) Punto final

- Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
R 1 (mL)	1,0	1,0	1,0
Patrón ^(Nota2-3) (µL)	--	25	--
Muestra (µL)	--	--	25

- Mezclar y añadir:

R 2 (mL)	1,0	1,0	1,0
----------	-----	-----	-----

- Mezclar e incubar 15 minutos a 37°C.
- Leer la (A) del calibrador y la muestra, frente al Blanco de reactivo.

Cálculos

$$\frac{(A) \text{Muestra}}{(A) \text{Calibrador}} \times 50 \text{ (Conc. Calibrador)} = \text{mg/dL de urea en la muestra}$$

10 mg/L urea BUN dividido por 0,466 = 21 mg/L de urea = 0,36 mmol/L urea¹.

Factor de conversión: mg/dL x 0,1665 = mmol/L.

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados: SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA¹

Suero: de 15 a 45 mg/dL (2.49-7.49 mmol/L)

Orina: de 20 a 35 gr/24 horas

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección de 0,70 mg/dL hasta el límite de linealidad de 200 mg/dL.

Si la concentración es superior al límite de linealidad, diluir la muestra 1/2 con CIna 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

Media (mg/dL)	Intraserie (n=20)		Interserie (n=20)	
	43,2	145	41,9	147
SD	1,51	1,10	0,80	2,83
CV (%)	3,49	0,76	1,92	1,91

Sensibilidad analítica: 1 mg/dL = 0.00459 A.

Exactitud: Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r): 0.9884

Ecuación de la recta de regresión: $y = 0.975x + 0.6$

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Como anticoagulante se recomienda la heparina. En ningún caso deben utilizarse sales de amonio o fluoruro¹.

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la urea^{2,3}.

NOTAS

- UREA CAL: Debido a la naturaleza del producto, es aconsejable tratarlo con sumo cuidado ya que se puede contaminar con facilidad.
- El material empleado así como el agua destilada que se utilice deben estar libres de amoníaco y/o sus sales¹.
- La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos. Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.

BIBLIOGRAFÍA

- Kaplan A. Urea. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1257-1260 and 437 and 418.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTACIÓN

Ref. 1001323 Cont. R1, R2: 1 x 50 mL, CAL: 1 x 2 mL.

Ref. 1001325 R1, R2: 1 x 250 mL, CAL: 1 x 5 mL

Ref. 1001326 R1, R2: 1 x 100 mL, CAL: 1 x 2 mL