

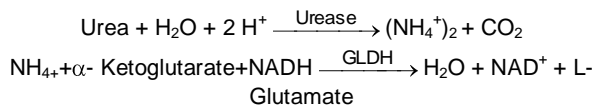
**Quantitative determination of urea  
IVD**

Store at 2-8°C

**PRINCIPLE OF THE METHOD**

Urea in the sample is hydrolyzed enzymatically into ammonia (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) and carbon dioxide (CO<sub>2</sub>).

Ammonia ions formed reacts with α-ketoglutarate in a reaction catalysed by glutamate dehydrogenase (GLDH) with simultaneous oxidation of NADH to NAD<sup>+</sup>:



The decrease in concentration of NADH, is proportional to urea concentration in the sample<sup>1</sup>.

**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<sup>1,4,5</sup>.

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

**REAGENTS**

<b>R 1</b> Buffer	TRIS pH 7.8	80 mmol/L
	α-Ketoglutarate	6 mmol/L
	Urease	75000 U/L
<b>R 2</b> Enzymes	GLDH	60000 U/L
	NADH	0.32 mmol/L
<b>Optional</b>	SPINTROL H CAL	

**PREPARATION**

DUAL MODE: Ready to use.

MONO MODE: Pour reagent 2 content over reagent 1. Mix thoroughly avoiding foam forming and it will be ready to use (WR). The Working reagent (WR) is stable for 1 month at 2-8°C.

**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 340 nm < 1.00.

**ADDITIONAL EQUIPMENT**

- Spectrophotometer or colorimeter measuring at 340 nm..
- Matched cuvettes 1.0 cm light path.
- General laboratory equipment<sup>(Note 1)</sup>.

**SAMPLES**

- Serum or heparinized plasma<sup>1</sup>: Do not use ammonium salts or fluoride as anticoagulants.
- Urine<sup>1</sup>: 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.

**INTERFERENCES**

It is recommended to use heparin as anticoagulant. Do not use ammonium salts or fluoride<sup>1</sup>.

A list of drugs and other interfering substances with urea determination has been reported by Young et. al<sup>2,3</sup>.

**APPLICATION SPINLAB 180**

Name	UREA	Ref. male low	15 mg/dL
Abbr. Name	UREA	Ref. male high	45 mg/dL
Mode	Twopoint	Ref. female low	15 mg/dL
Wavelength	340 nm	Ref. female high	45 mg/dL
Units	mg/dL	Ref. Ped. Low	15 mg/dL
Decimals	0	Ref. Ped. High	45 mg/dL
Low Conc.	15	Panic value low	*
High Conc.	250	Panic value high	*
Calibrator name	CAL	Control 1	*
Prozone check	No	Control 2	*
		Control 3	*
		Correlat. factor	1.000
		Correlat. offset	0.000
<b>DUAL MODE</b>		<b>MONO MODE</b>	
Sample blank	No	Sample blank	No
R1 bottle (mL)	25 mL	R1 bottle (mL)	30 mL
Normal volume	240 µL	Normal volume	300 µL
Rerun volume	240 µL	Rerun volume	300 µL
Sample		Sample	
Normal volume	3.0 µL	Normal volume	3.0 µL
Rerun volume	2.0 µL	Rerun volume	2.0 µL
R2 bottle (mL)	5 mL		
Normal volume	60.0 µL		
Rerun volume	60.0 µL		
Predilución	No		
Slope blank	No		
1 <sup>st</sup> , 2 <sup>nd</sup> time	24, 103 sec.	1 <sup>st</sup> , 2 <sup>nd</sup> time	24, 103 sec.
Factor		Factor	
Reagent blank	Yes	Reagent blank	Yes
Low Absorbance	-0.100 Abs	Low Absorbance	-0.100 Abs
High Absorbance	3.000 Abs	High Absorbance	3.000 Abs
R. Abs. L. Limit	-0.100 Abs	R. Abs. L. Limit	-0.100 Abs
R. Abs. H. Limit	3.000 Abs	R. Abs. H. Limit	3.000 Abs
R. Abs. Deviation	3.000 Abs	R. Abs. Deviation	3.000 Abs

**QUALITY CONTROL**

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

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

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

**REFERENCE VALUES<sup>4,5</sup>**

Serum or plasma:

15-45 mg/dL ≅ 2.5-7.5 mmol/L

Urine:

26 – 43 g/24 h ≅ 428-714 mmol/24 h

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

**NOTES**

1. Glassware and distilled water must be free of ammonia and ammonium salts<sup>1</sup>.
2. Use clean disposable pipette tips for its dispensation.
3. **SPINREACT has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.**

**BIBLIOGRAPHY**

1. 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.
2. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
3. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
4. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
5. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

**PACKAGING**

Ref: SP41041

Cont.

R1: 10 x 20 mL

R2: 10 x 5 mL

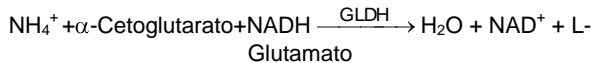
### Determinación cuantitativa de urea IVD

Conservar a 2-8°C

#### PRINCIPIO DEL MÉTODO

La ureasa cataliza la hidrólisis de la urea, presente en la muestra, en amoníaco (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) y anhídrido carbónico (CO<sub>2</sub>).

Los iones amonio formados se incorporan al α-cetoglutarato por acción de la glutamato deshidrogenasa (GLDH) con oxidación paralela de NADH a NAD<sup>+</sup>: Urea + H<sub>2</sub>O + 2 H<sup>+</sup>  $\xrightarrow{\text{Ureasa}}$  (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>)<sub>2</sub> + CO<sub>2</sub>



La disminución de la concentración de NADH en el medio es proporcional a la concentración de urea de la muestra ensayada<sup>1</sup>.

#### SIGNIFICADO CLÍNICO

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

La concentración de urea en sangre (uremia) aumenta como consecuencia de dietas con exceso de proteínas, enfermedades renales, insuficiencia cardíaca, hemorragias gástricas, hipovolemia y obstrucciones renales<sup>1,4,5</sup>.

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

#### REACTIVOS

<b>R 1</b>	TRIS pH 7,8	80 mmol/L
Tampón	α-Cetoglutarato	6 mmol/L
	Ureasa	75000 U/L
<b>R 2</b>	GLDH	60000 U/L
Enzimas	NADH	0,32 mmol/L
<b>Opcional</b>	SPINTROL H CAL	

#### PREPARACIÓN

MODO DUAL: Reactivos listos para el uso.

MODO MONO: Verter el contenido del reactivo 2 sobre el reactivo 1. Mezclar evitando la formación de espuma y quedará listo para usar (RT).

La estabilidad del (RT) es de 1 mes a 2-8°C.

#### 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 340 nm < 1,00.

#### MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 340 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio<sup>(Nota 1)</sup>.

#### MUESTRAS

- Suero o plasma heparinizado<sup>1</sup>: No usar sales de amonio o fluoruro como anticoagulantes.
- Orina<sup>1</sup>: 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.

#### INTERFERENCIAS

Como anticoagulante se recomienda la heparina. En ningún caso deben utilizarse sales de amonio o fluoruro<sup>1</sup>.

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la urea<sup>2,3</sup>

### APLICACIÓN AL SPINLAB 180

Nombre	UREA	Ref. Hombre Inf.	15 mg/dL
Nombre abreviado	UREA	Ref. Hombre Sup.	45 mg/dL
Modo	Dos Puntos	Ref. Mujer Inf.	15 mg/dL
Long. ondas	340 nm	Ref. Mujer Sup.	45 mg/dL
Unidades	mg/dL	Ref. Ped. Inf.	15 mg/dL
Decimales	0	Ref. Ped. Sup.	45 mg/dL
Conc. Inferior	5	Valor pánico bajo	*
Conc. Superior	250	Valor pánico alto	*
Calibrador	CAL	Control 1	*
Chequeo prozona	No	Control 2	*
		Control 3	*
		Factor correl.	1.000
		Offset de correl.	0.000
<b>MODO DUAL</b>		<b>MODO MONO</b>	
Blanco muestra	No	Blanco muestra	No
Frasco R1 (mL)	25 mL	Frasco R1 (mL)	30 mL
Vol. normal	240 µL	Vol. normal	300 µL
Vol. repet.	240 µL	Vol. repet.	300 µL
Muestra		Muestra	
Vol. normal	3.0 µL	Vol. normal	3.0 µL
Vol. repet.	2.0 µL	Vol. repet.	2.0 µL
Frasco R2 (mL)	5 mL		
Vol. normal	60.0 µL		
Vol. repet.	60.0 µL		
Predilución	No		
Pendiente Blco.	No		
1º, 2º tiempo	24, 103 sec.	1º, 2º tiempo	24, 103 sec.
Factor		Factor	
Blanco reactivo	Si	Blanco reactivo	Si
Absorbancia inf.	-0.100 Abs	Absorbancia inf.	-0.100 Abs
Absorbancia sup.	3.000 Abs	Absorbancia sup.	3.000 Abs
Lim.Inf. Abs. React.	-0.100 Abs	Lim.Inf. Abs. React.	-0.100 Abs
Lim.Sup. Abs. React.	3.000 Abs	LimSup. Abs. React.	3.000 Abs
Desv. Abs. React.	3.000 Abs	Desv. Abs. React.	3.000 Abs

#### 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, se debe revisar los instrumentos, los reactivos y la calibración.

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 REFERENCIA<sup>4,5</sup>

Suero o plasma:

15-45 mg/dL  $\cong$  2,5-7,5 mmol/L

Orina:

26 – 43 g/24 h  $\cong$  428-714 mmol/24 h

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

#### NOTAS

1. El material empleado así como el agua destilada que se utilice deben estar libres de amoníaco y/o sus sales<sup>1</sup>.
2. Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
3. **SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.**

#### BIBLIOGRAFÍA

1. 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.
2. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
3. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
4. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
5. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

#### PRESENTACIÓN

Ref: SP41041	Cont.	R1: 10 x 20 mL
		R2: 10 x 5 mL