

REF 10202-4 4 x 39 ml

AZOTO UREICO (BUN)

Flaconi contenenti ciascuno 39 ml di volume utilizzabile di reagente.

USO PREVISTO

Il reagente per azoto ureico EasyRA è indicato per la misurazione quantitativa dell'azoto ureico (BUN) nel siero e nel plasma umani (con litio-eparina come anticoagulante), utilizzando l'analizzatore chimico clinico MEDICA EasyRA®. Le misurazioni dell'azoto ureico trovano applicazione nella diagnosi e nella cura di alcune patologie renali e metaboliche.

Solo per uso diagnostico *in vitro*. Solo per uso professionale.

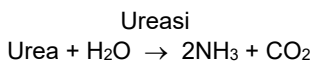
RIEPILOGO E SPIEGAZIONE

L'urea, il principale prodotto finale della degradazione degli amminoacidi, viene espulsa principalmente dai reni. L'urea serica viene usata come test di funzionalità renale. Insieme alla determinazione della creatinina serica, la misurazione dell'urea è utile nella diagnosi differenziale dell'azotemia.¹

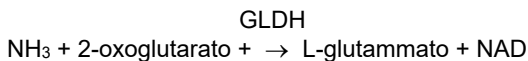
PRINCIPIO DELLA PROCEDURA

Il reagente BUN si fonda sul metodo di Talke e Schubert².

In queste due reazioni enzimatiche associate, l'urea viene prima idrolizzata dall'ureasi ad ammoniaca e anidride carbonica (I):



L'ammoniaca prodotta nella prima reazione reagisce con 2-oxoglutarato e viene stabilizzata con NADH analogo in presenza di glutammato deidrogenasi (GLDH) per formare glutammato e NAD (II).



La diminuzione nella concentrazione del cofattore ridotto (NADH), monitorato a 340 nm, è proporzionale alla concentrazione di urea nel campione.

REAGENTE

a-ketoglutarato	14 mM
Ureasi (botanica)	> 50 KU/L
GLDH (mammifero)	> 12 KU/L
Adenosina difosfato	5,0 mM
NADH analogo ³	0,20 mM

Tampone, pH 8 a 25° C, conservante e agenti stabilizzanti.

PRECAUZIONI

1. Seguire sempre buone prassi di sicurezza di laboratorio quando si maneggiano reagenti di laboratorio. (CLSI, GP17-A2).
2. Il reagente contiene meno dello 0,1% di azoturo di sodio, che potrebbe reagire con le tubature in rame e piombo formando accumuli altamente esplosivi di azidi metallici. Per informazioni su rischi, pericoli e sicurezza fare riferimento alle schede di sicurezza (SDS).
3. Come per qualunque altra procedura di test diagnostico, i risultati devono essere interpretati alla luce dei risultati prodotti da altri test e dello stato clinico del paziente.
4. Non utilizzare cuvette lavate.

ISTRUZIONI PER LA MANIPOLAZIONE, LA CONSERVAZIONE E LA STABILITÀ DEL REAGENTE

Il reagente viene fornito pronto all'uso. Il reagente in confezione chiusa si mantiene stabile fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta se conservato ad una temperatura di 2 – 8 °C.

Il reagente rimane stabile on-board nel vano reagenti refrigerato nell'analizzatore EasyRA per il numero di giorni programmati sul chip RFID del flacone del reagente. Non usare il reagente qualora questo si presenti torbido od opaco o nel caso in cui non riesca a recuperare i valori noti di controllo del siero.

PRELIEVO E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI/STABILITÀ

È necessario usare siero e plasma puliti non emolizzati. Per la raccolta del plasma è possibile utilizzare provette con rivestimento in litio-eparina. L'azoto ureico serico è stabile per un giorno a 18 – 25 °C, per diversi giorni a 2 – 8 °C o per sei mesi a -15 °C.⁴ Poiché l'urea è suscettibile di degradazione batterica, i campioni devono essere conservati a 2 – 8 °C fino all'analisi.⁵

Limiti e interferenza dei conservanti per le provette di raccolta

Gli ioni di ammonio presenti nell'acqua o in altre sostanze possono innalzare in modo errato i valori di urea. Evitare l'eccessiva vicinanza ad un laboratorio di analisi delle urine o a delle forniture di detergenti contenenti ammoniaca.

PROCEDURA

Materiale fornito

Flacone di reagente per azoto ureico Medica, REF 10202

Ulteriore materiale necessario

Medica EasyCal Chimica, REF 10651

Medica EasyQC® Chimica/Elettroliti – Level A, REF 10793

Medica EasyQC Chimica/Elettroliti – Livello B, REF 10794

Flacone per analisi colorimetrica di precisione Medica, REF 10764

Flacone di detergente Medica – Chimica e ISE, REF 10660, *oppure*

Flacone di detergente – Chimica, REF 10661

ISTRUZIONI PER L'USO

Il reagente viene fornito pronto all'uso. Rimuovere il tappo e collocare il reagente nel piatto reagenti dell'analizzatore EasyRA situato nell'area reagenti. La stabilità on-board (60 giorni massimo) è programmata sul chip RFID del flacone del reagente.

Nota: verificare che non sia presente schiuma nella parte interna del collo del flacone dopo aver rimosso il tappo e averlo collocato sull'analizzatore EasyRA. Qualora fosse presente schiuma, rimuoverla con un tampone o una pipetta monouso prima di eseguire il test.

Calibrazione

Per la calibrazione dell'analisi si consiglia Medica EasyCal Chimica (REF 10651). L'intervallo di calibrazione (7 giorni massimo) è programmato sul chip RFID posto sul flacone del reagente. Ogni qual volta il numero di lotto del reagente cambia o si verifica uno spostamento nei valori di controllo qualità è necessario eseguire nuovamente la calibrazione.

Controllo qualità

Si consiglia di eseguire due livelli di controllo del siero umano (normale e anomalo) con l'analisi quotidianamente, ogni volta che vengono eseguiti i test di un paziente e il lotto di reagenti cambia. Il mancato raggiungimento dell'intervallo corretto di valori nel test del materiale di controllo può essere indice di deterioramento del reagente, malfunzionamento dello strumento o errori procedurali. Quando viene utilizzato il materiale di controllo qualità il laboratorio deve inoltre attenersi alla normativa locale, nazionale e federale in materia di controllo di qualità.

Risultati

Dopo aver completato l'analisi, l'analizzatore EasyRA estrapola la concentrazione di azoto ureico dal rapporto tra il cambiamento al minuto dell'assorbanza corretta del campione sconosciuto e il cambiamento al minuto dell'assorbanza corretta del calibratore moltiplicato per il valore del calibratore.

$$\text{BUN (mg/dl)} = \frac{(\Delta A/\text{Min}_U - \Delta A/\text{Min}_{\text{Blk}})_{340}}{[(\Delta A/\text{Min}_C - \Delta A/\text{Min}_{\text{Blk}})_{340}]} \times \text{Cal Value}$$

Dove $\Delta A/\text{Min}_U$ e $\Delta A/\text{Min}_C$ indicano rispettivamente il cambiamento dei valori di assorbanza al minuto del campione sconosciuto e del calibratore; $\Delta A/\text{Min}_{\text{Blk}}$ indica il cambiamento dell'assorbanza del bianco reagente e "Cal Value" indica la concentrazione di azoto ureico nel calibratore (mg/dl).

Valori attesi¹

L'intervallo di riferimento per l'azoto ureico nel siero e nel plasma è il seguente:

Normale: 11 - 37 mg/dl

Tali valori rappresentano esclusivamente delle linee guida consigliate. Si consiglia a ciascun laboratorio di stabilire il proprio intervallo di valori attesi, in quanto esistono differenze tra strumenti, laboratori e popolazioni locali.

Limiti procedurali (ad es. se il campione è al di sopra dell'intervallo di misura)

Usare esclusivamente campioni di siero o plasma non emolizzati.

L'analizzatore EasyRA evidenzia qualunque risultato al di sopra di 70 mg/dl come "LH" (linearità alta). Se l'icona di "Riesecuzione" viene selezionata, è possibile che il campione venga ritestato utilizzando la metà (1/2) del volume del campione. I risultati del test rieseguito vengono calcolati tenendo conto dell'uso di volumi inferiori del campione. In tal modo l'intervallo accettabile del test dell'azoto ureico viene esteso a 140 mg/dl.

CARATTERISTICHE DI PRESTAZIONE⁶

Intervallo accettabile

L'intervallo accettabile è compreso tra 1 e 70 mg/L. L'intervallo esteso è compreso tra 1 e 140 mg/L quando viene usata la metà del campione (fattore di diluizione 1:1).

Imprecisione/Correlazione (CLSI, EP9-A2)

La tabella seguente elenca i dati ottenuti in un confronto tra le prestazioni del reagente per BUN Medica (y) su un analizzatore EasyRA che utilizzi solo la lunghezza d'onda principale di 340 nm e quelle dello stesso reagente per BUN (x) sull'analizzatore EasyRA che utilizzi una lunghezza d'onda principale di 340 nm e una lunghezza d'onda secondaria di 700 nm. I dati di seguito illustrati rappresentano le singole determinazioni ottenute che utilizzi la lunghezza d'onda principale e una lunghezza d'onda secondaria sull'analizzatore EasyRA a fronte della media di due valori ripetuti ottenuti che utilizzi solo una lunghezza d'onda principale sull'analizzatore EasyRA.

Numero di campioni	48	Intervallo dei campioni	da 2,0 a 67,0 mg/dl
Pendenza	1,0095	Intercetta y	-0,0253
Coefficiente di correlazione	0,9993	Equazione di regressione:	$Y = 1,0095 \cdot X - 0,0253$

La tabella seguente elenca i dati ottenuti in un confronto di campioni abbinati di siero (x) e plasma (y) trattato con litio-eparina con il reagente per azoto ureico Medica sull'analizzatore chimico Medica EasyRA. I dati che seguono rappresentano una sola misurazione del plasma rispetto alla media di due valori replicati del siero.

Numero di campioni	71	Intervallo dei campioni	da 5,2 a 63,3 mg/dl
Pendenza	1,0028	Intercetta y	-0,4871
Coefficiente di correlazione	0,9989	Equazione di regressione	$Y = 1,0028 \cdot X - 0,4871$

*Cobas Mira è un marchio registrato di Roche Diagnostics Operations, INC., Indianapolis, IN.

Imprecisione (CLSI, EP5-A2)

Le misurazioni duplicate di ciascuno dei tre livelli di materiale di controllo qualità sono state analizzate due volte al giorno per 20 giorni. Da questi dati sono state determinate sia la precisione intra-serie che quella totale.

Imprecisione intra-serie:

Livello QC mg/dl	SD intra-serie mg/dl	CV intra-serie %
48,7	0,3	0,6
31,1	0,2	0,7
12,2	0,2	1,6

Imprecisione totale:

Livello QC mg/dl	SD imprecisione totale mg/dl	CV imprecisione totale %
48,7	0,5	1,1
31,1	0,4	1,2
12,2	0,2	1,8

Linearità (CLSI, EP6-A)

Lineare da 1 a 70 mg/dl, basata sulla regressione lineare $Y = 0,9992 \cdot X + 0,8761$.

Limite di vuoto:	0,5 mg/dl	(CLSI, EP17-A)
Limite di rilevamento:	0,8 mg/dl	(CLSI, EP17-A)
Limite di quantificazione (LOQ):	1,3 mg/dl	(CLSI, EP17-A)

Sostanze interferenti (CLSI, EP7-A)

Le interferenze inferiori al 10% sono state classificate come "non significative".

Interferenza positiva clinicamente significativa è stata riscontrata con livelli di emoglobina oltre 300 mg/dl. Non utilizzare campioni emolizzati.

In livelli fino a 40 mg/dl di bilirubina non sono state riscontrate interferenze significative.

In livelli fino a 800 mg/dl di trigliceridi non sono state riscontrate interferenze significative (usando Intralipid*).

I campioni provenienti da pazienti con macroglobulinemia di Waldenstrom hanno un elevato potenziale di interferenza e potrebbero produrre risultati inaffidabili.

*Intralipid è un marchio registrato di Pharmacia AB, Clayton, NC.

Young fornisce un elenco di medicinali e altre sostanze che interferiscono con le analisi chimiche cliniche.⁷

RIFERIMENTI

- 1 Tietz, N.W., *Textbook of Clinical Chemistry*, W.B. Saunders Co., 3rd ed, p676, 1987.
- 2 Talke, H., Schubert, G.E., *Enzymatische Harnstoffbestimmung in BLUT and Serum in Optischen Test NACH Warburg*, Klin. Wchnschr 43, 174 (1965).
- 3 U.S. Patent No. 5,801,006.
- 4 Henry, RJ, Cannon DC, Winkleman, JW. *Clinical Chemistry: Principles and Techniques*, 2nd ed. Hagerstown, MD., Harper and Row; 1974:516.
- 5 Kaplan, L.A. and Pesce, A.J., *Clinical Chemistry – Theory, Analysis, and Correlation*, Third Edition. Mosby Year-Book Inc., St. Louis, p. 500 (1996).
- 6 Dati in archivio presso Medica.
- 7 Young DS. Young's Effects on-line. *Effects of Drugs, Physiology, Preanalytical variables and herbs on Clinical Laboratory Tests*. AACC www.fxol.org

Parametri dell'analisi EasyRA (BUN)

Lunghezza d'onda principale (nm)	340
Lunghezza d'onda secondaria (nm)	700
Tipo di reazione	Cinetica (1)
Direzione di reazione	Diminuzione
Bianco reagente	Sì (con ciascuna calibrazione)
Bianco campione	No
Primo interv. max. camb. assorb	0,20
Tempo di reazione	2,8 min
Intervallo di calibrazione (massimo)	7 giorni
Stabilità on-board del reagente	60 giorni

Siero/plasma

Volume del campione (µl)	3,5
Volume del diluente (µl)	0
Volume del reagente (µl)	200
Posizioni decimali (valori predefiniti)	0
Unità (valori predefiniti)	mg/dl
Fattore di diluizione	1:1 (per estendere l'intervallo di misurazione)
Linearità	da 1 a 70 mg/dl

