



UREA

(UV method Urease-GLDH Method)

REF

UR250

جمع آوری و آماده سازی نمونه

- نمونه سرم یا پلاسما (Lithium heparin)
- نمونه urine به نسبت ۱:۲۰ با محلول ۰.۹% NaCl رقیق شود.
- پایداری آنالیت در نمونه: سرم:

- دما: ۲۴ ساعت در دمای محیط
 - دما: ۸-۲۰ درجه سانتیگراد ۱ هفته
 - دما: ۲۰- درجه سانتیگراد ۳ ماه
- Urine:
- دما: ۸-۲۰ درجه سانتیگراد ۴ روز

هدف استفاده

این کیت برای اندازه گیری کمی Urea موجود در سرم و پلاسما و ادرار به روش Kinetic UV method Urease-GLDH استفاده می شود.

اهمیت بالینی

اوره در اثر متابولیسم پروتئین در کبد تولید می شود و از طریق کلیه همراه با ادرار دفع می شود. اختلال در متابولیسم پروتئین ها باعث افزایش و یا کاهش میزان اوره می شود. اندازه گیری مقدار اوره در خون اطلاعات مهمی در مورد عملکرد کلیه و کبد می دهد. افزایش میزان اوره در سرم می تواند نشانه اختلال در عملکرد کلیه و یا انسداد مجاری ادراری باشد.

اساس اندازه گیری

اوره در حضور آب در اوره آز هیدرولیز شده و دی اکسید کربن تولید می کند. آمونیاک تشکیل شده در واکنش اول با آلفا کتوگلوکارات و NADH در حضور گلوکاتامات دهیدروژناز ترکیب شده و گلوکاتامات و NAD⁺ تشکیل می دهد. به علت کاهش میزان NADH در این واکنش میزان جذب در 340nm مشاهده می شود، که این میزان کاهش در جذب با غلظت اوره در نمونه متناسب است.

معرف ها

R1	Good buffer	100 mmol/l
	ADP	10 mmol/l
	Urease	2000 U/l
R2	Good buffer	100 mmol/l
	Alpha-ketoglutarate	10mmol/l
	NADH	10 mmol/l

*معرف ها مایع و آماده مصرف می باشند.

پایداری و شرایط نگهداری کیت

- در دمای C 8-2 نگهداری شود.
- از قرار دادن کیت در معرض نور و آلودگی به صورت مستقیم جلوگیری شود.
- از فریز کردن معرف ها خودداری شود.

نکات ایمنی

- معرف ها مطابق با الزامات GLP حمل و نگهداری شود.
- معرف ها حاوی سدیم آزید هستند. از بلعیدن، تماس با پوست، چشم و غشاء مخاطی پرهیز کنید. در صورت تماس با پوست حتما با مقدار زیاد آب شسته شود. از پیپت کردن محلول با دهان خودداری شود.
- موارد ایمنی کار با این معرف ها در اسناد ایمنی کیت ها (MSDS) قید شده است.
- دفع پسماند ها مطابق با قوانین تدوین شده وزارت بهداشت انجام شود.

تجهیزات و مواد مورد نیاز برای آزمایش

- معرف R1 و R2
- کالیبراتور شرکت بهان طب آزما جهت کالیبره کردن و کنترل های های نرمال و پاتوژن شرکت که می بایست بصورت جداگانه تهیه گردد.
- اسپکتروفوتومتر اتوآنالایزر
- میکرو پیپت
- سایر تجهیزات عمومی

روش انجام آزمایش

پارامترهای دستگاهی

340(334-365) nm	طول موج
37°C	دما
1 cm	طول مسیر عبور نور
Kinetic	نحوه خوانش

نسبت نمونه/استاندارد/بلانک : معرف (تک معرف R1:R2= 4:1)

نمونه	استاندارد	بلانک	معرف
1000µL	1000µL	1000µL	
-	-	10µL	آب مقطر
10µL	-	-	نمونه
-	10µL	-	استاندارد

مقادیر بالا مخلوط شده و ۳۰ ثانیه در دمای 37°C انکوبه شود. جذب نمونه (AS) و جذب کالیبراتور (AC) بعد از ۳۰ و 90 ثانیه اندازه گیری شود.

نسبت نمونه/استاندارد/بلانک : معرف (دو معرف)

نمونه	استاندارد	بلانک	معرف
800µL	800µL	800µL	
-	-	10µL	آب مقطر
10µL	-	-	نمونه
-	10µL	-	استاندارد



UREA

(UV method Urease-GLDH Method)

REF

UR250

Intra-Assay Precision(within-run) n=20			
CV%	SD	میانگین (mg/dl)	نمونه
3.80	1.54	40.40	Level 1
1.48	2.24	150.95	Level 2

- اینتر اسی-دقت

دو نمونه در دو سطح غلظتی متفاوت در سه روز متوالی هر روز ۲۰ بار اندازه گیری شد.

Inter-Assay Precision(between-run) n=20/day			
CV%	SD	میانگین (mg/dl)	نمونه
0.07	0.03	40.63	Level 1
0.14	0.22	152.05	Level 2

-۴ صحت(مقایسه روش ها)

مقایسه ای بین کیت شرکت بهان با یکی از کیت‌های معتبر بازار بر روی ۶۰ نمونه نتایج زیر بدست آمد.

ضریب همبستگی (R): 0.98

$$y = 0.9835x + 2.5292$$

-۵ بررسی تداخلات احتمالی

آنالیت‌های زیر درمقادیر ذکر شده، تداخلی در آزمایش نشان نمی‌دهند.

Bilirubin	≤30mg/dl
Hemoglobin	≤500mg/dl
Ascorbic Acid	≤20mg/dl

کنترل کیفیت

هر بار که کیت استفاده می‌شود باید با نمونه‌های کنترل تست شود. هر آزمایشگاه باید مقادیر میانگین انحراف استاندارد مورد قبول خود را جهت مقایسه تهیه کند.

منابع

- Dr. Hans Bisswanger, Enzyme Kinetics, second Edition, Wiley-VCH 2008
- Tietz. N.W. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd Edition.
- Friedrich Lottspeich, Joachim Engels, Analytical Methods and Concepts in Biochemistry and Molecular Biology, Wiley-VCH 2018

مقادیر بالا مخلوط شده و یک دقیقه در دمای 37°C انکوبه شود. سپس R2 اضافه شود.

معرف ۲ (R2)	200µL	200µL	200µL
مقادیر بالا مخلوط شده و در دمای 37°C انکوبه شده، سپس جذب نمونه (AS) و کالیبراتور (AC) به فاصله ۳۰ و ۹۰ ثانیه اندازه گیری شود.			
تمامی پارمترهای ذکر شده برای اندازه گیری دستی این تست است، برای اندازه گیری به صورت اتوماتیک متناسب با ویژگی‌های هر دستگاه این پارامترها ممکن است تغییر کند.			

محاسبات

$$\text{Urea (mg/dl)} = \frac{A2S - A1S}{A2C - A1C} * \text{Concentration Of calibrator}$$

Conversion Factor:

$$\text{Urea (mg/dl)} * 0.1665 = \text{Urea (mmol/l)}$$

مقادیر مرجع

Serum-Plasma	
Children: <1 Year	8.6-40.7 mg/dl
Children: 1-18	10.7-38.6 mg/dl
Adults: 18-60	12.9-42.9 mg/dl
Adults: 60-90	17.2-49.3 mg/dl
Urine	
Adults	26-43g/24h

هر آزمایشگاه باید دامنه مرجع مختص به خود را با توجه به جامعه آماری بیمارانش تعیین کند. برای اهداف تشخیصی نتایج Urea باید تاریخچه پزشکی بیمار، آزمایشات و دیگر یافته‌ها بطور همزمان بررسی شود.

پارامترهای کارایی کیت

-۱ دامنه خطی بودن (Dynamic Range)

Serum: 10-300 mg/dl

(در نمونه‌های با غلظت بالاتر، نمونه با محلول 0.9% NaCl با نسبت ۵:۱ رقیق شود.)

Urine: 200-6000 mg/dl

-۲ حساسیت (Sensitivity)

حساسیت (کمترین حد اندازه گیری در محدوده دامنه خطی): 10 mg/dl

-۳ دقت (Precision)

-اینتر اسی-تکرارپذیری

برای اندازه گیری دو نمونه در دو محدوده غلظتی انتخاب و ۲۰ بار اندازه گیری شد.