UREA (Double Reagent)

GLDH – U.V

اصول آزمایش:

اوره موجود در سرم تحت تاثیرآنزیم اورئاز به آمونیاک تبدیل میشود.آمونیاک بوجود آمده نیز NADH را در مجاورت آنزیم گلوتامات دهیدروژناز (GLDH) به NAD تبدیل میکند شدت این فعل و انفعال ، متناسب با غلظت اوره سرم میباشد.جذب نوری معرف در طول موج ۳٤۰ نانومتر ، متناسب با مصرف NADH کاهش مییابد.

$$\text{Urea} + 2\,H_2O \xrightarrow{\text{Urease}} 2NH_4^+ + CO_3^{2-}$$

$$\text{2-Oxoglutarate} + NADH + NH_4^+ \xrightarrow{\text{GLDH}} \text{L- glutamate} + NAD^+ + H_2O$$

معرفها :

– معرف **R1 : 4 × 80 ml**

Tris buffer (PH 7.8)
ADP
Urease
GLDH
2-Oxoglutarate

– معرف **R2 : 1 × 80 ml**

NADH

– استاندارد **4 ml**

Urea 50 mg/dl

آماده سازی معرفها :

معرفها در روش دو معرفه (Reagent start)آماده مصرف میباشند ولی در روش تک معرفه (Sample start) محلول آماده بکار با اختلاط یک قسمت معرف R2 با چهار قسمت معرف R1 تهیه میگردد بطور مثال ۲ میلی لیتر معرف R2 با ۸ میلی لیتر معرف R1 مخلوط میگردد .از قرار دادن معرف ها در برابر نور ممانعت گردد. معرفها در دمای 2-8ºC تا انقضاءِ تاریخ مصرف پایدار میباشند. . محلول آماده بکار تا ۳ هفته در دمای 2-8ºC و ۳ روز در دمای 15-25ºC پایدار خواهد ماند .از قرار دادن محلول آماده بکار در برابر نور ممانعت گردد

شرایط تهیه و نگهداری نمونه :

از سرم یا پلاسما (به استثناءِ پلاسما آمونیوم هپارینه) و ادرار میتوان استفاده نمود. در آزمایش ادرار ، نمونه را باید به نسبت (۱ + ۱۰۰) با آب مقطر رقیق نمود.

روش انجام آزمایش :

طول موج : Hg 365 nm,340 nm or Hg 334 nm

دما :

37 ºC

اندازه گیری : با استفاده از بلانک معرف انجام میگیرد .

الف) روش تک معرفه (sample start) : معرف و کووت را تا دمای مورد نظر گرم کنید . دما در حین آزمایش باید در محدوده (± 0.5 ºc) حفظ شود.

دما	25ºC, 30ºC	37 ºC
نمونه	20 µl	10 µl
محلول آماده بکار	1000 µl	1000 µl
پس از اختلاط,جذب نوری را بعد از ۱ دقیقه قرائت نمائید سپس جذب نور ی در دقیقه دوم را از دقیقه اول کم کنید.		

ب) روش دو معرفه (reagent start) : معرف و کووت را تا دمای مورد نظر گرم کنید . دما در حین آزمایش باید در محدوده (± 0.5 ºc) حفظ شود.

دما	25ºC, 30ºC	37 ºC
نمونه	20 µl	10 µl
معرف R1	1000 µl	1000 µl1
پس از اختلاط بمدت ۵ دقیقه در دمای مورد نظر انکوبه نمائید		
معرف R2	250 µl	250 µl
. پس از اختلاط,جذب نوری را بعد از ۱ دقیقه قرائت نمائید سپس جذب نور ی در دقیقه دوم را از دقیقه اول کم کنید		

محاسبه:

$C = 50 \times \Delta A\ sample\ /\ \Delta A\ stdandard$ mg/dl

* برای اندازه گیری اوره ادرار، جواب را در عدد ۱۰۱ ضرب نمائید.

فاکتور تبدیل BUN به UREA :

$C\,(BUN) = 0.466 \times C\,(Urea)$

$C\,(UREA) = 2.14 \times C\,(BUN)$

محدودیت آزمایش :

با این روش میتوان غلظت اوره را تا 300mg/dl اندازه گیری نمود . در غلظتهای بالاتر سرم را به نسبت ۱+۱ با آب مقطر رقیق نموده آزمایش را تکرار وجواب را در ۲ ضرب کنید .

دقت (در ۳۷ درجه سانتیگراد) :

Intra - assay precision

N = 40	Mean (mg/dl)	SD (mg/dl)	CV (%)
Sample 1	35	0.25	0.7
Sample 2	121	0.63	0.5
Sample 3	210	0.83	0.4

Inter - assay precision

N = 40	Mean (mg/dl)	SD (mg/dl)	CV (%)
Sample 1	35	0.29	0.81
Sample 2	121	0.67	0.55
Sample 3	211	1.11	0.53

مقایسه روش ها :

در مقایسه انجام شده کیت شرکت کیمیاپژوهان با یکی از متداول ترین کیت های فسفر بر روی ٤۰ نمونه بیمار ، نتیجه زیر بدست آمد :

$Y = 0.993X + 0.002$
$R^2 = 0.999$

حدود طبیعی :

Serum : 10-50 mg/dl
Urine : 20-35 g/24h

کنترل کیفی :

توصیه میگردد از سرم کنترل های Control serum N و Control serum P و Multicalibrator شرکت کیمیاپژوهان استفاده گردد.

اتوماسیون :

پارامتر دستگاههای مختلف در شرکت موجود میباشد.

توجه :

- در این آزمایش هموگلوبین تا غلظت 500 mg/dl و تری گلیسریدها تا 2000 mg/dl و بیلی روبین تا 60 mg/dl ,گلوکز تا 500 mg/dl و آسکوربیک اسید تا 30 mg/dl هیچگونه تداخلی ندارد.
- معرف ها حاوی سدیم آزاید میباشند بنابراین از تماس آن با پوست و چشم و یا دهان خودداری گردد.

Reference:
- Kassirer ,J.P.,New Eng.J.Med. 285,385 (1971)
- Talke,H.,Schubert,G.E.,Klin.wochenschr. 43,174 (1965)

کیلومتر ۲۲ جاده مخصوص کرج- پشت نفت پارس (سرخه حصار)- خیابان کیمیاپژوهان- پلاک۱۳ . تلفن: ٤-٤٦٨٤٩٤٥١ فکس: ٤٦٨١٠٢٨٤

کیلومتر ۲۲ جاده مخصوص کرج- پشت نفت پارس (سرخه حصار)- خیابان کیمیاپژوهان- پلاک۱۳ . تلفن: ٤-٤٦٨٤٩٤٥١ فکس: ٤٦٨١٠٢٨٤