



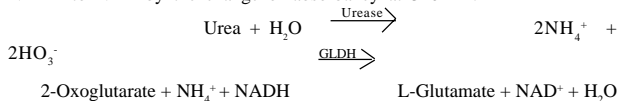
Stanbio Urea Nitrogen (BUN) Liqui-UV® Procedure No. 2020

For the Kinetic Quantitative Determination of Urea Nitrogen (BUN) in Serum

Summary and Principle

Urea is the principle waste product of protein catabolism. It is synthesized in the liver from ammonia which is produced as a result of the deamination of amino acids. Normally, urea nitrogen in the blood comprises only about 45% of the non-protein nitrogen. The importance of urea nitrogen determination is its value as an indicator of liver and kidney functions. Decreases in Blood Urea Nitrogen (BUN) are seen with nephritis, acute liver destruction, amyloidosis and pregnancy.¹ Increases in BUN are encountered with acute and chronic nephritis, intestinal and urinary obstruction, uremia, metallic poisoning, pneumonia, Addison's Disease, peritonitis, surgical shock and cardiac failure.

The Stanbio BUN procedure is a modification of the method described by Sampson.¹ Urea is catalytically converted to ammonium carbonate by the use of urease. The reaction rate is dependent upon the concentration of the influence of glutamic dehydrogenase. The rate of this second reaction is dependent upon the first and can be measured by the rate of conversion of NADH to NAD by the change of absorbance at 340 nm.



Reagent

BUN Buffer (R1), Ref. No. 2021

Composition:

Tris, pH 7.8	120 mmol/L
2-Oxoglutarate	7.0 mmol/L
ADP (monosodium salt)	0.6 mmol/L
Urease (Jack Bean)	60000 U/L
GLDH (Baker's yeast)	10000 U/L

BUN Enzyme (R2), Ref. No. 2022

Composition:

NADH (Disodium salt)	0.25 mmol/L
----------------------	-------------

BUN Standard - 30 mg/dL, Ref. No. 1022

Aqueous solution of urea in addition to trace amounts of stabilizers. Standard is referenced against NIST material.

Precautions: The reagents are for "In Vitro Diagnostic Use". Normal precautions exercised in handling laboratory reagents should be followed. The reagents contain sodium azide which may be toxic if ingested. Sodium azide may also react with lead and copper plumbing to form highly explosive metal azides. Refer to Material Safety Data Sheet for any updated risk, hazard or safety information.

Reagent Preparation: Buffer and Enzyme liquid reagents are supplied ready-to-use. Prepare Working Reagent in the ratio of 5 parts Buffer (R1) to 1 part Enzyme (R2), (i.e., 25 mL Buffer and 5 mL Enzyme). Before use allow to stand for at least 30 minutes at room temperature (15-25°C).

Reagent Storage and Stability: Reagents are stable until the expiration date on their respective labels, when properly stored at 2-8°C and protected from light. Reagents should appear clear and colorless. Discard if either appears cloudy or contains particulate matter. The Working Reagent is stable for 4 weeks at 2-8°C or 5 days at room temperature (15-25°C). Protect the reagent from direct light. The Working Reagent should be discarded if the initial absorbance, read against distilled water at 340 nm, is below 1.000.

Material Required But Not Provided

Spectrophotometer capable of absorbance reading at 340 nm
Constant temperature block or bath, 37°C, or temperature controlled cuvet

Accurate pipetting devices Test tubes Interval timer

Specimen Collection and Storage

Non-hemolyzed serum is the specimen of choice. Whenever possible specimens should be separated and analyzed on the day of collection. Anticoagulants containing ammonium or fluoride salts must be avoided.² Urea in serum is stable for up to 24 hours at room temperature (15-25°C), several days refrigerated at 2-8°C and for at least 2-3 months when frozen (-20°C). Bilirubin levels up to 40 mg/dL, hemoglobin levels up to 200mg/dL and triglyceride levels up to 2000 mg/dL show no interference in this test.⁴

Interfering Substances: In addition to hemolysis, fluoride at elevated concentrations and ammonia can cause interferences.³

Manual Procedure

1. Prepare BUN Working Reagent according to instructions.
2. Zero spectrophotometer at 340 nm with distilled water.
3. For each sample and control, add 1.0 mL Working Reagent to cuvet or test tube and warm to 37°C for 3 minutes.
4. Add 10 µL (0.010 mL) serum to its respective tube and mix gently.
5. After exactly 30 seconds read and record absorbance (A₁).
6. At exactly 60 seconds after reading (A₁), read and record absorbance (A₂).
7. Calculate change in absorbance (ΔA) by subtracting (A₁-A₂).
8. Run patients and controls by following steps 4 through 7.

NOTE: If cuvet is not temperature controlled, incubate samples at 37°C between readings.

Quality Control: Stanbio Ser-T-Fy® I, Normal Control Serum, Cat. No. G427-86 and Ser-T-Fy® II, Abnormal Control Serum, Cat. No. G428-86 are recommended for each run. Other commercially available controls with BUN values assayed by this method are also suitable. BUN activity determined in these materials, by this procedure should fall within the ranges stated for the controls. Two levels of controls should be analyzed with each run.

Calibration: Calibration is required. The instrument manufacturer's calibration guidelines should be followed to calibrate your analyzer.

Results

Values are derived by comparing the absorbance change(ΔA) of the unknown (u) with that of a standard (s) identically treated.

$$\text{Serum BUN (mg/dL)} = \frac{\Delta A_u}{\Delta A_s} \times 30$$

Where Au and As are the absorbance changes (decrease) of unknown and standard, respectively, and 30 the concentration of standard (mg/dL)

$$\text{Example: } \Delta A_u = 0.045, \Delta A_s = 0.090$$

$$\text{Serum BUN (mg/dL)} = \frac{0.045}{0.090} \times 30 = 15$$

Limitations

If the BUN value exceeds 140 mg/dL the specimen should be diluted 2-fold (1+1) with distilled water, the assay repeated and results multiplied by the dilution factor of 2. BUN values for neonatal patients have not been established with this procedure.

Expected Values³

Normal Range:	BUN	8 - 23 mg/dL
	Urea	17 - 49 mg/dL
	Urea (mg/dL) =	BUN (mg/dL) x 2.14
	Urea (mmol/L) =	Urea(mg/dL) x 0.167

This range should serve only as a guideline. It is ultimately the responsibility of the laboratory to establish its own range of expected values, since differences exist between instruments, laboratories, and local populations.

Performance Characteristics⁴

The following performance characteristics were performed using an Epos 5060

Comparison: A group of 68 sera ranging in BUN values from 11 - 97 mg/dL was assayed by the described BUN method and by a similar commercially available BUN reagent. Comparison of the results yielded a correlation coefficient of 0.999 and the regression equation was y = 1.012x - 0.47. (Comparison studies were performed according to NCCLS Tentative Guideline, EP9-T.)

Precision: Within-run precision was established by 20 assays on three different levels of commercial serum controls. Total Precision values were obtained by assaying 3 commercial controls for 5 consecutive days.

	Within-Run		
	Serum 1	Serum 2	Serum 3
Mean BUN (mg/dL)	22	45	54
Std. Deviation (mg/dL)	0.6	0.8	0.6
C.V. (%)	2.6	1.8	1.2
	Total Precision		
	Serum 1	Serum 2	Serum 3
Mean BUN (mg/dL)	15	46	70
Std. Deviation (mg/dL)	0.4	0.6	0.7
C.V. (%)	3.0	1.2	1.0

Precision studies were performed according to NCCLS Tentative Guideline, EP5-T.

Linearity: Linear from 2-140 mg/dL. Performed according to NCCLS Guidelines EP6-P.

Sensitivity: Based on an instrument resolution of A = 0.001, the method presented shows a sensitivity of 2.0 mg/dL. Values less than 2.0 mg/dL should be reported as < 2.0 mg/dL.

References

1. Sampson, E.J., Baird, M.A., Burtis C.A., et al.: A coupled-enzyme equilibrium method for measuring urea in serum: Optimization and evaluation of the AACC Study Group on urea candidate reference method. Clin Chem., 26, 816-826, 1980.
2. Tietz, N.W., Textbook of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Company, Philadelphia, PA, (1986), p.1270-1271.2.
3. Henry, R.J., Clinical Chemistry Principles and Techniques, 2nd Edition, Harper and Row, Hagerstown, NY, (1974), p.511.
4. Stanbio Laboratory Data

Manufactured By:

Stanbio Laboratory • 1261 North Main Street • Boerne, Texas 78006 USA
Ph: (830) 249-0772 • Fax (830) 249-0851 • e-mail: stanbio@stanbio.com
http://www.stanbio.com

DN: RBR.2020CE.02 • Last Revision: 04/04 • Procedure No. 2020CE



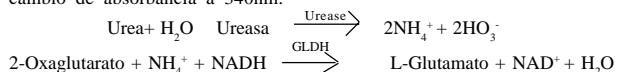
Stanbio Urea Nitrógeno (BUN) Liqui-UV® Procedimiento No. 2020

Para la determinación cuantitativa Cinética de Nitrógeno Uréico (BUN) en suero.

Resumen y Principios

La Urea es el producto final del catabolismo de las proteínas. Se sintetiza por el hígado a partir de amoníaco, el cual se produce como resultado de la desaminación de los aminoácidos. Normalmente la urea nitrógeno en la sangre, incluye solo cerca de un 45% de las proteínas no nitrogenadas. Lo importante al determinar la urea nitrógeno, son los valores que se obtienen y que indican como estan las funciones del hígado y riñón. Un decremento en la urea nitrógeno de la sangre, es visto comunmente en la nefritis, en una destrucción aguda del hígado, en amiloidosis y en embarazo.¹ Un incremento en el BUN se observa en nefritis crónica y aguda, obstrucciones intestinal y urinaria, uremia, metales contaminados, neumonía, enfermedad de Addison, peritonitis y descompensación cardíaca.

El procedimiento Stanbio BUN, es una modificación del método descrito por Sampson.¹ La Urea es convertida catalíticamente a carbonato de amonio, usando la ureasa. El coeficiente de reacción depende de la concentración de la influencia de la deshidrogenasa glutámica. El coeficiente de una segunda reacción depende de la primera y puede ser medida por medio de el coeficiente de conversión NADH para NAD por medio del cambio de absorbancia a 340nm.



Reactivos

Bufér BUN (R1), Cat. No. 2021

Componentes:		
Tris, pH 7.8	120	mmol/L
2-Oxoglutarato		7.0 mmol/L
ADP (sal monosodio)	0.6	mmol/L
Ureasa (Jack Bean)	60000	U/L
GLDH (Levadura de Baker)	10000	U/L

Enzima BUN (R2), Cat. No. 2022

Componente:	
NADH (sal disodio)	0.25 mmol/L

Estandar BUN- 30 mg/dL, Cat. No. 1022

Solución acuosa de urea adicionada para detectar indicios de estabilizadores. El estándar es referido contra el material NIST.

Precauciones: Los Reactivos son "para uso de diagnóstico in vitro. Tome las precauciones normales para el manejo de reactivos de laboratorio. Los reactivos contienen sodio azide que puede ser tóxico si se ingiere. Se ha reportado que este sodio azide, puede reaccionar con plomo y cobre de tuberías, pudiendo formar metales azides explosivos. Consulte su hoja de seguridad para más información.

Preparación del Reactivo: Los reactivos tanto de Enzima y bufér vienen incluidos y listos para usarse. Prepare su reactivo para trabajar en proporción de 5 partes de Bufér (R1) por una de Enzima (R2), (Ej: 25 ml Bufér y 5mL de enzima). Antes de usarlos, dejelos reposar por al menos 30 minutos a temperatura ambiente (15-30°C).

Estabilidad y Amacenaje de los reactivos: Los reactivos son estables hasta la fecha de su expiración indicada en sus etiquetas, cuando se mantienen adecuadamente almacenadas de 2-8°C y protegidos de la luz. El reactivo debe tener una apariencia clara sin color. Desechelo si se ve turbio ó con partículas de materia. El reactivo de trabajo es estable por 4 semanas guardandolo a una temperatura entre 2-8°C ó por 5 días a

trabajo debe ser desechado, si su absorbancia inicial leída contra agua destilada a 340 nm, esta por debajo de 1.000.

Materiales Requeridos Pero No Incluidos

Espectofotómetro adecuado para leer absorbancias de 430 nm.
Pipetas adecuadas.
Tubos de prueba.
Incubadora constante ó baño maría, 37°C, ó cubeta de temperatura controlada.
Reloj de intervalos.

Recolección y Preparación de la Muestra

La mejor opción son muestras de suero no hemolizadas. Siempre que sea posible, las muestras deben estar separadas y analizadas el día de su recolección. Los anticoagulantes conteniendo amonio ó sales de fluoruro, deben ser evitados.² La Urea en suero, es estable hasta por 24 horas a temperatura ambiente (15-30°C), por varios días si está refrigerada de 2-8°C y al menos de 2-3 meses, si está congelada (-20°C). En los niveles de Bilirrubina hasta de 40 mg/dL, en los de hemoglobina hasta de 200 mg/dL y de los triglicéridos hasta de 2000 mg/dL, no se muestran interferencias en las pruebas.³

Substancias que interfieren: Además de la hemólisis, los fluoruros a elevadas concentraciones y la amonía, pueden causar interferencias.³

Procedimiento Manual

1. Prepare su reactivo BUN para trabajar, de acuerdo a las instrucciones.
2. Ponga en cero el espectofotómetro a 340 nm, con agua destilada.
3. Para cada muestra y control, añada 1.0 mL del reactivo de trabajo a una cubeta ó tubo de prueba y calientelos a 37°C por 3 minutos.
4. Dispense 10 µL (0.010 mL) de suero en sus respectivos tubos y mezcle suavemente.
5. Exactamente 30 segundos después, lea y registre la absorbancia (A1).
6. Después de 60 segundos de haber leído (A1), lea y registre la absorbancia (A2).
7. Calcule el cambio en la absorbancia (ΔA) restando (A1-A2).
8. Corra la muestra del paciente y los controles siguiendo los pasos del 4 al 7.

Nota: Si la cubeta no tiene temperatura controlada, incube muestras a 37°C entre las lecturas.

Control de Calidad: Tanto el control normal de suero Ser-T-Fy® I, Stanbio, Cat. No. G427-86 y el Control de suero anormal Ser-T-Fy® II, Cat. No. G428-86 son recomendados para cada corrida. Otros controles comerciales disponibles con valores BUN probados por este método, son también recomendables. La actividad del BUN determinada en estos materiales por este método, caerán dentro de los rangos asentados para los controles. Dos niveles de controles deben ser analizados en cada corrida.

Calibración: La calibración es requerida. La guía de calibración de los fabricantes de instrumentos, debe ser seguida para calibrar su analizador.

Resultados

Los valores se obtienen comparando el cambio de absorbancia (ΔA) del desconocido (u) con el de un estándar (s) igualmente tratado.

$$\text{Suero BUN (mg/dL)} = \frac{\Delta A_u}{\Delta A_s} \times 30$$

Donde Au y As son los valores de absorbancia del DESCONOCIDO y el ESTANDAR respectivamente y 30 es la concentración del estándar (mg/dL).

Ejemplo: ΔAu = 0.045, ΔAs = 0.090

$$\text{Suero BUN (mg/dL)} = \frac{0.045}{0.090} \times 30 = 15$$

Limitaciones

Si los valores del BUN exceden de 140 mg/dL, la muestra debiera ser diluida (1a 1) con agua destilada, el ensayo hacerlo otra vez y los resultados multiplicados por el factor de la dilución de dos. Los valores BUN para pacientes recién nacidos no deben ser establecidos por este procedimiento.

Valores Esperados³

Rango normal: BUN 8-23 mg/dL
Urea 17-49 mg/dL

$$\text{Urea (mg/dL)} = \text{BUN (mg/dL)} \times 2.14$$
$$\text{Urea (mmol/L)} = \text{Urea (mg/dL)} \times 0.167$$

El rango debe servir unicamente como una guía. Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango de valores esperados, ya que hay diferencias entre los distintos instrumentos, laboratorios y gente.

Características⁴

Las siguientes características de procedimiento fueron llevadas a cabo utilizando un Epos 5060

Comparación: Un grupo de 68 muestras de suero, con rangos de valores BUN de 11-97 mg/dL, fueron probados por el método BUN descrito y por un reactivo BUN comercial similar disponible. La comparación de resultados, dió un coeficiente de correlación de 0.999 y la ecuación de regresión fué y=1.012x-0.47 (Estudios comparativos fueron llevados a cabo de acuerdo con la guía tentativa NCCLS, EP9-T).

Precisión: La precisión dentro de las corridas fue establecida por 20 pruebas en 3 diferentes niveles de sueros de control comerciales. Los valores de precisión totales se obtuvieron probando 3 controles comerciales por 5 días consecutivos.

	Dentro de la corrida		
	Suero 1	Suero 2	Suero 3
Promedio BUN (mg/dL)	22	45	54
Desviación Estandar (mg/dL)	0.6	0.8	0.6
C.V. (%)	2.6	1.8	1.2

	Precisión total		
	Suero 1	Suero 2	Suero 3
Promedio BUN (mg/dL)	15	46	70
Desviación Estandar (mg/dL)	0.4	0.6	0.7
C.V. (%)	3.0	1.2	1.0

Estudios de precisión fueron llevados a cabo de acuerdo a la guía NCCLS, EP5-T.

Linealidad: Es lineal de 2 a 140mg/dL. Llevado a cabo de acuerdo a la guía NCCLS EP6-P.

Sensibilidad: Basado en la resolución de un instrumento de A=0.001, el método presentado, muestra una sensibilidad de 2.0 mg/dL. Los valores con menos de 2.0 mg/dL, deben ser reportados como < 2.0 mg/dL.

Referencias

1. Sampson, E.J., Baird, M.A., Burtis C.A., et al: A coupled-enzyme equilibrium method for measuring urea in serum: Optimization and evaluation of the AACC Study Group on urea candidate reference method. Clin Chem., 26, 816-826, 1980.
2. Tietz, N.W., Textbook of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Company, Philadelphia, PA, (1986), p.1270-1271.2.
3. Henry, R.J., Clinical Chemistry Principles and Techniques, 2nd Edition, Harper and Row, Hagerstown, NY, (1974), p.511.
4. Stanbio Laboratory Data

Para asistencia tecnica llame: 800-531-5535 • (830) 249-0772

Fax (830) 249-0851 • e-mail: stanbio@stanbio.com

http://www.stanbio.com

Stanbio Laboratory • 1261 North Main Street • Boerne, Texas 78006

DN: RBR.2020CE.02 • Last Revision: 04/04 • Procedure No. 2020CE