



Para la determinación de urea en suero, plasma u orina

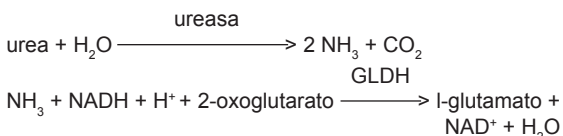
SIGNIFICACION CLINICA

La urea constituye la fracción de nitrógeno no proteico más importante en la mayoría de los líquidos biológicos. En el hombre es el principal producto final del metabolismo proteico. Se produce en el hígado y es excretada por la orina a través de los riñones.

Una elevación de la concentración sérica de urea, se interpreta generalmente como una posible disfunción renal. Sin embargo, no debe dejarse de lado el hecho de que los valores séricos de urea se encuentran íntimamente relacionados con la dieta y el metabolismo proteico, por lo que cualquier alteración en estas variables se traducirá en un cambio de la concentración de urea en suero.

FUNDAMENTOS DEL METODO

Basado en el siguiente esquema reaccionante:



REACTIVOS PROVISTOS

S. Standard*: solución de urea 0,60 g/l (equivalente a 28,04 mg/dl de BUN).

A. Reactivo A: solución conteniendo buffer Good pH 7,6, 2-oxoglutarato, ureasa y glutamato deshidrogenasa (GLDH).

B. Reactivo B: solución conteniendo NADH.

Concentraciones finales

Buffer Good	250 mmol/l
2-Oxoglutarato	7,5 mmol/l
NADH	0,28 mmol/l
Ureasa (Jack bean)	≥ 5000 U/l
GLDH (microbiana)	≥ 800 U/l

REACTIVOS NO PROVISTOS

Calibrador A plus de Wiener lab.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Standard : listo para usar.

Reactivos A y B: listos para usar. Estos pueden usarse separados o como **Reactivo único** mezclando 4 partes de Reactivo A + 1 parte de Reactivo B (ej.: 4 ml Reactivo A + 1 ml Reactivo B).

PRECAUCIONES

Los Reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Reactivos Provistos: son estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. Una vez abiertos, no deben permanecer destapados y fuera del refrigerador durante lapsos de tiempo prolongados. Evitar contaminaciones.

Reactivo único (premezclado): en refrigerador (2-10°C) es estable 30 días a partir del momento de su preparación.

INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

La turbidez es indicio de deterioro de los Reactivos.

Cuando el espectrofotómetro ha sido llevado a cero con agua, lecturas de Absorbancia del Blanco inferiores a 1,000 D.O. (a 340 nm) son indicio de deterioro del mismo.

MUESTRA

Suero, plasma u orina

a) Recolección: obtener suero de la manera usual o plasma recolectado con anticoagulantes comunes. Separar de los glóbulos rojos dentro de las 24 horas de obtenida.

Si la muestra es orina, utilizar preferentemente fresca.

b) Aditivos: en caso de que la muestra a emplear sea plasma, se recomienda el uso de heparina o EDTA (**Anti-coagulante W** de Wiener lab.) para su obtención. No utilizar heparinato de amonio.

c) Sustancias interferentes conocidas: no se observan interferencias por bilirrubina hasta 150 mg/l, hemoglobina hasta 350 mg/dl y triglicéridos hasta 7 g/l.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: la urea en suero es estable 7 días a 20-25°C o a 2-10°C o 1 año a -20°C, sin agregado de conservantes. En orina es estable 2 días a 20-25°C, 7 días a 2-10°C o 4 semanas a -20°C sin agregado de conservantes.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados.
- Cubetas espectrofotométricas
- Cronómetro

CONDICIONES DE REACCION

(disminución de la absorbancia)

- Longitud de onda: 340 nm (Hg 334 ó 366)

- Temperatura de reacción: 37°C

- Tiempo de reacción: 2 minutos

- Volumen de muestra: 10 µl

- Volumen final de la reacción: 1,01 ml

Los volúmenes de Muestra y de Reactivo pueden variarse proporcionalmente a fin de acomodarlos a los requerimientos de los distintos espectrofotómetros.

PROCEDIMIENTO

I- TECNICA CON REACTIVOS SEPARADOS

Llevar a cero el espectrofotómetro con agua destilada. En una cubeta mantenida a la temperatura de trabajo, colocar:

Reactivo A	1 ml
-------------------	------

Muestra o Standard	10 µl
---------------------------	-------

Mezclar sin invertir. Incubar aproximadamente 1 minuto a 37°C. Luego agregar:

Reactivo B	250 µl
-------------------	--------

Mezclar inmediatamente (sin invertir) y disparar simultáneamente un cronómetro. A los 60 segundos exactos medir la absorbancia (D_1 o S_1) y continuar la incubación. Medir nuevamente la absorbancia (D_2 o S_2) a los 120 segundos (60 segundos después de la 1° lectura).

II- TECNICA CON REACTIVO UNICO

Llevar a cero el espectrofotómetro con agua destilada. En una cubeta mantenida a la temperatura de trabajo, colocar:

Reactivo único	1 ml
-----------------------	------

Muestra o Standard	10 µl
---------------------------	-------

Mezclar inmediatamente (sin invertir) y disparar simultáneamente un cronómetro. A los 60 segundos exactos medir la absorbancia (D_1 o S_1) y continuar la incubación. Medir nuevamente la absorbancia (D_2 o S_2) a los 120 segundos (60 segundos después de la 1° lectura).

III- TECNICA EN ORINA

Utilizar la misma técnica (I o II) diluyendo la orina convenientemente con agua o solución fisiológica. Para el cálculo de los resultados, multiplicar por el factor de dilución utilizado.

VALORES DE REFERENCIA

Suero o plasma

0,10 - 0,50 g/l como urea (4,7 - 23,4 mg/dl como BUN)

Este rango se obtuvo de muestras provenientes de 120 individuos habitantes de la ciudad de Rosario (Argentina), de ambos sexos (entre 20 y 45 años), sin síntomas de disfunción renal u otra enfermedad aparente.

Orina

Normalmente, la eliminación de urea está sujeta a grandes variaciones dependientes de la dieta. Por término medio, y con una dieta mixta corriente, se excretan unos 30 g en 24 horas, con oscilaciones comprendidas entre 20 g y 40 g. En la literatura (Tietz, N.W.) se menciona el siguiente rango de referencia:

Suero o plasma: 13 - 43 mg/dl (2,1 - 7,1 mmol/l)

Orina: 26 - 43 g/24 hs (0,43 - 0,72 mol/24 horas)

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CONVERSION DE UNIDADES

Urea (g/l) x 46,7 = BUN (mg/dl)

Urea (mg/dl) x 0,1665 = Urea (mmol/l)

Urea (mg/dl) x 0,467 = BUN (mg/dl)

BUN (mg/dl) x 2,14 = Urea (mg/dl)

Urea (g/24 hs) x 0,0167 = Urea (mol/24 hs)

Para convertir valores de urea (en g/l) a valores de BUN (en mg/dl), se debe utilizar el siguiente factor de conversión:

$$\text{factor} = \frac{1}{2,14} \times \frac{1000}{10} = 46,7$$

donde:

1/2,14 = factor de conversión entre la urea y el nitrógeno ureico en sangre (BUN)

1000 = factor de conversión entre gramo y miligramo

1/10 = factor de conversión entre litro y decilitro

Ejemplo:

0,50 g/l de urea x 46,7 = 23,4 mg/dl de BUN

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

Para preservar la integridad de los reactivos debe emplearse material volumétrico perfectamente limpio y seco.

PERFORMANCE

Los ensayos fueron realizados en analizador Express Plus^(*)

a) Reproducibilidad: procesando simultáneamente 20 replicados de una misma muestra, en un mismo día, se obtienen los siguientes resultados:

Precisión intraensayo

Nivel	D.S.	C.V.
0,283 g/l	± 0,0057 g/l	2,01 %
1,13 g/l	± 0,0136 g/l	1,20 %

Precisión interensayo

Nivel	D.S.	C.V.
0,28 g/l	± 0,0066 g/l	2,36 %
1,13 g/l	± 0,0148 g/l	1,31 %

CALCULO DE LOS RESULTADOS

$$\text{Urea (g/l)} = f \times (D_1 - D_2) \quad f = \frac{0,60 \text{ g/l}}{(S_1 - S_2)}$$

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Standatrol S-E 2 niveles**) con concentraciones conocidas de urea, con cada determinación.

^(*) Marca registrada de Ciba Corning Diagnostics

b) Sensibilidad: la sensibilidad analítica de **Urea UV cinética AA líquida** es 0,071 g/l (7,1 mg/dl) de urea o 3,32 mg/dl de BUN y el límite de detección es 0,0383 g/l (3,83 mg/dl) de urea o 1,79 mg/dl de BUN.

c) Linealidad: la reacción es lineal hasta 3 g/l (300 mg/dl) de urea y hasta 140 mg/dl como BUN. Para valores superiores, diluir la muestra original 1:2 con agua destilada y repetir la determinación. Corregir los cálculos multiplicando el resultado por el factor de dilución empleado.

d) Correlación: se determinó el valor de urea en 158 muestras usando **Urea UV cinética AA líquida** y otro kit comercial basado en el mismo principio. El coeficiente de correlación obtenido fue el siguiente:

$r = 0,9995$; pendiente $b = 1,0093$; intersección $a = 0,0985$

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Consultar las instrucciones de programación en el Manual del Usuario del analizador en uso.

Para la calibración, se debe utilizar **Calibrador A plus** de Wiener lab., de acuerdo a los requerimientos del analizador.

PRESENTACION

- 100 ml (4 x 20 ml Reactivo A + 2 x 10 ml Reactivo B), sin Standard (Cód. 1009807)
- 225 ml (3 x 60 ml Reactivo A + 3 x 15 ml Reactivo B), sin Standard (Cód. 1009319).
- 300 ml (4 x 60 ml Reactivo A + 1 x 60 ml Reactivo B), sin Standard (Cód. 1009634).
- 400 ml (8 x 40 ml Reactivo A + 4 x 20 ml Reactivo B), sin Standard (Cód. 1009275).
- 500 ml (4 x 100 ml Reactivo A + 4 x 25 ml Reactivo B), Standard incluido (Cód. 1810324).
- 250 ml (1 x 200 ml Reactivo A + 5 x 10 ml Reactivo B), Standard incluido (Cód. 1810330).
- 250 ml (2 x 100 ml Reactivo A + 5 x 10 ml Reactivo B), Standard incluido (Cód. 1810329).
- 1000 ml (4 x 200 ml Reactivo A + 1 x 200 ml Reactivo B), Standard incluido (Cód. 1810328).

BIBLIOGRAFIA

- Searcy, R.L. - "Diagnostic Biochemistry" McGraw-Hill, New York, NY 1969.
- Talke, H.; Schubert, G.E. - Klin Wochschr 43:174, 1965.
- Tiffany, T.O.; Jansen, J.M.; Burtis, C.A.; Overton, J.B.; Scott, C.D. - Clin. Chem. 18:829, 1972.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.
- Tietz Fundamentals of clinical chemistry - Burtis, C., Ashwood, E. (5^o Edition) WB Saunders, 2001.

SÍMBOLOS

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.



Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado en la Comunidad Europea



Uso diagnóstico "in vitro"



Contenido suficiente para <n> ensayos



Fecha de caducidad



Límite de temperatura (conservar a)



No congelar



Riesgo biológico



Volumen después de la reconstitución



Contenido



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Cáustico



Irritante



Consultar instrucciones de uso



Calibrador



Control




Control Positivo



Control Negativo



Número de catálogo

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
Cert. N°: 3261/99



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina

UR170131