



C

Urea color 2

Para la determinación de urea en líquidos biológicos

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

La ureasa descompone específicamente la urea produciendo dióxido de carbono y amoníaco. Este reacciona en medio alcalino con salicilato e hipoclorito para dar indofenol color verde.

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: solución concentrada conteniendo buffer fosfatos 200 mmol/l, ácido salicílico 750 mmol/l, nitroprusiato de sodio 20 mmol/l y EDTA 10 mmol/l.

B. Reactivo B: solución concentrada de hipoclorito de sodio 10 mmol/l en hidróxido de sodio 0,1 mol/l.

C. Reactivo C: ureasa ≥ 75 U/ml en solución glicerinada.

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

REACTIVOS NO PROVISTOS

Agua destilada.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivo A; preparación: diluir 1 parte del Reactivo A concentrado + 4 partes de agua destilada.

Reactivo B; preparación: diluir 1 parte del Reactivo B concentrado + 4 partes de agua destilada.

Reactivo A+C: se prepara agregando 4 ml de Reactivo C cada 100 ml de Reactivo A. Pueden prepararse otras cantidades mientras se respete la proporción indicada.

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.

Reactivo B: irritante. R36/38: Irrita los ojos y la piel. S26: En caso de contacto con los ojos, lávese inmediata y abundantemente con agua y acúdase a un médico. S37/39: Úsense guantes adecuados y protección para los ojos/la cara.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Reactivos Provistos: estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

Reactivos A y B: estables durante 1 año a partir del momento de su preparación conservados en refrigerador (2-10°C). La mezcla de **Reactivo A+C** es estable durante 20 días en refrigerador (2-10°C) a partir del momento de su preparación.

INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

Valores de Blanco superiores a 0,150 D.O. son indicio de deterioro de los reactivos. En tal caso desechar.

MUESTRA

Suero, plasma u orina

a) Recolección: obtener de la manera usual.

b) Aditivos: en caso de que la muestra a usar sea plasma se recomienda el uso de **Anticoagulante W** de Wiener lab.

c) Sustancias interferentes conocidas:

- Los anticoagulantes que contienen fluoruros inhiben la acción de la ureasa.

- No se observan interferencias por hemólisis ligeras o moderadas y bilirrubina hasta 400 mg/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 varios días en refrigerador (2-10°C) o 6 meses en congelador, sin agregado de conservadores.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro o fotocolorímetro.

- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados.

- Baño de agua a 37°C (opcional).

- Reloj o timer.

CONDICIONES DE REACCION

- Temperatura de reacción: 37°C o temperatura ambiente.

- Tiempo de reacción: 10 minutos a 37°C o 20 minutos a temperatura ambiente.

- Volumen de reacción: 2 ml

- Volumen de muestra: 10 ul

PROCEDIMIENTO

I) TECNICA PARA SUERO O PLASMA

En tres tubos marcados B (Blanco), D (Desconocido) y S (Standard) colocar:

	B	S	D
Standard	-	10 ul	-
Suero o plasma	-	-	10 ul
Reactivo A+C	1 ml	1 ml	1 ml

Mezclar. Incubar 5 minutos a 37°C o 10 minutos a temperatura ambiente. Luego agregar:

Reactivo B	1 ml	1 ml	1 ml
-------------------	------	------	------

Mezclar. Incubar 5 minutos a 37°C o 10 minutos a temperatura ambiente.

Leer en espectrofotómetro a 570 nm o en fotocolorímetro con filtro naranja (560-580 nm).

II) TECNICA PARA ORINA

Se sigue la misma técnica que para suero o plasma utilizando orina diluida con agua o solución fisiológica. Como el contenido de urea está generalmente relacionado con la densidad, es conveniente diluir según el siguiente esquema:

Densidad hasta 1,015 diluir 1/10

Densidad de 1,016 a 1,025 diluir 1/20

Densidad mayor de 1,025 diluir 1/40

Como la orina contiene cantidades variables de amoníaco debe efectuarse un Blanco de orina (BD). Dicho Blanco se ejecuta igual que el Blanco de reactivos (B), con la diferencia que, después de agregado el Reactivo B, se agregan 10 ul de la dilución de orina. Llevar el aparato a cero con el Blanco de Reactivos (B) y leer el Standard (S), el Blanco de orina (BD) y desconocido (D).

ESTABILIDAD DE LA MEZCLA DE REACCION FINAL

El color de la reacción es estable durante 2 horas por lo que la absorbancia debe ser leída dentro de ese lapso.

CALCULO DE LOS RESULTADOS

Suero o plasma:

$$\text{Urea g/l} = D \times \text{factor} \quad \text{factor} = \frac{0,60 \text{ g/l}}{S}$$

Orina:

$$\text{Urea g/l} = \frac{(D - BD) \times 0,60 \text{ g/l}}{S} \times \text{dilución}$$

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Si la muestra a ensayar es suero, procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Standatrol S-E 2 niveles**) con concentraciones conocidas de urea, con cada determinación. En el caso de muestras de orina, utilizar un control con base de orina.

CONVERSION DE UNIDADES AL SISTEMA SI

Urea (g/l) x 16,67 = Urea (mmol/l)

BUN (mg/dl) x 0,357 = Urea (mmol/l)

VALORES DE REFERENCIA

Suero o plasma: 0,10 - 0,50 g/l

Este rango se obtuvo de 120 muestras de individuos en ayunas, pertenecientes a ambos sexos, con edades comprendidas entre 20 y 45 años, provenientes de la ciudad de Rosario (Argentina), 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 excreta unos 30 g en 24 horas, con oscilaciones comprendidas entre 20 g y 40 g.

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

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

PERFORMANCE

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

Nivel	D.S.	C.V.
0,60 g/l	± 0,008 g/l	1,32 %
2,28 g/l	± 0,045 g/l	1,97 %

b) Linealidad: la reacción es lineal hasta 2,50 g/l. Si las lecturas resultan muy altas para el aparato empleado pueden utilizarse 1,5 ml de cada Reactivo y 10 ul de muestra para obtener la linealidad mencionada.

Cuando la concentración de urea supera los 2,50 g/l o está por encima de la linealidad del aparato, puede diluirse la reacción final con el blanco. En estas condiciones es lineal hasta 5 g/l.

c) Recuperación: agregando cantidades conocidas de urea a diferentes alícuotas de la misma muestra se obtuvo una recuperación entre 94,2 y 100,6%.

d) Sensibilidad analítica: depende del fotómetro empleado y de la longitud de onda. En espectrofotómetros con cubetas de caras paralelas de 1 cm de espesor, para un ΔA de 0,001 el mínimo cambio de concentración detectable será de 0,0125 g/l.

PRESENTACION








Equipo para 500 determinaciones (Cód. 1810050).

BIBLIOGRAFIA

- Kim, H.S.; et al. - J. Korean Agr. Chem. Soc. 2:23 (1961).
- Stergermann, H. et al. - Z. Physiol. Chem. 329:241 (1962).
- Fawcett, J.K. et al. - Brit. J. Clin. Path. 13:156 (1960).
- Searcy, R.L. et al. - Am. J. Med. Techn. 27:255 (1961).
- Patton, C.J. et al. - Analytical Chem. 49/3:464 (1977).
- Lorenzo, L.; Setta, F.; Demaría, I. - "Evaluación de un método de Berthelot modificado para dosar urea" - Revista ABA 55/2:76 (1991).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.

Símbolos

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

C	Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"	M	Elaborado por:
P	Representante autorizado en la Comunidad Europea		Nocivo
V	Uso diagnóstico "in vitro"		Corrosivo / Caústico
X	Contenido suficiente para <n> ensayos		Irritante
H	Fecha de caducidad	i	Consultar instrucciones de uso
I	Límite de temperatura (conservar a)	Calibr. 	Calibrador
	No congelar	b	Control
F	Riesgo biológico	b	Control Positivo
	Volumen después de la reconstitución	c	Control Negativo
Cont. 	Contenido	h	Número de catálogo
g	Número de lote		

M 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.
Disp. N°: 184/90-5266/98



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina