

UREA-LQ

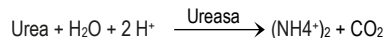
Ureasa-GLDH. Cinético. Líquido

Determinación cuantitativa de urea IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

La urea cataliza la hidrólisis de la urea, presente en la muestra, en amoníaco (NH₄⁺) y anhídrido carbónico (CO₂). Los iones amonio formados se incorporan al α-cetoglutarato por acción de la glutamato deshidrogenasa (GLDH) con oxidación paralela de NADH a NAD⁺:



La disminución de la concentración de NADH en el medio es proporcional a la concentración de urea de la muestra ensayada.

SIGNIFICADO CLÍNICO

La urea es el resultado final del metabolismo de las proteínas; se forma en el hígado a partir de su destrucción.

La concentración de urea en sangre (uremia) aumenta como consecuencia de dietas con exceso de proteínas, enfermedades renales, insuficiencia cardíaca, hemorragias gástricas, hipovolemia y obstrucciones renales.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R 1 Tampón	TRIS pH 7,8 A-Cetoglutarato Ureasa	80 mmol/L 6 mmol/L 75000 U/L
R 2 Enzimas	GLDH NADH	60000 U/L 0,32 mmol/L
UREA CAL	Patrón primario acuoso de Urea	50 mg/dL

PREPARACIÓN

Reactivo de trabajo (RT): Mezclar 4 vol. de R1 Tampón +1 vol. R2 Enzimas. La estabilidad del RT es de 1 mes a 2-8°C o 1 semana a temperatura ambiente (15-25°C).

UREA CAL: Listo para su uso.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del blanco a 340 nm < 1,00.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 340 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.

- Equipamiento habitual de laboratorio^(nota 2).

MUESTRAS

- Suero o plasma heparinizado: No usar sales de amonio o fluoruro como anticoagulantes.
- Orina: Diluir la muestra al 1/50 en agua destilada. Mezclar. Multiplicar el resultado obtenido por 50 (factor de dilución). Evitar el crecimiento bacteriano, manteniendo el pH < 4. La urea es estable 5 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

1. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: 340 nm
Cubeta: 1 cm paso de luz
Temperatura: 37°C / 15–25 °C

2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada o aire.

3. Pipetear en una cubeta^(nota 4):

	Blanco	Patrón	Muestra
RT (mL)	1,0	1,0	1,0
Patrón ^(nota 1, 3) (μL)	--	10	--
Muestra (μL)	--	--	10

4. Mezclar. Leer las absorbancias a los 30 s (A₁) y a los 90 s (A₂).

5. Calcular: ΔA = A₁ – A₂.

CÁLCULOS

$$\frac{(A_1 - A_2)\text{MUESTRA} - (A_1 - A_2)\text{BLANCO}}{(A_1 - A_2)\text{PATRÓN} - (A_1 - A_2)\text{BLANCO}} \times 50 (\text{Conc. Patrón}) = \frac{\text{mg}}{\text{dL}} \text{ de urea en la muestra}$$

mg/dL Urea x 0,466 = mg/dL de Urea BUN (Blood Urea Nitrogen).

Factor de conversión: mg/dL x 0,1665 = mmol/L.

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados.

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar los instrumentos, los reactivos y la calibración.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA

Suero o plasma:

15-45 mg/dL ≈ 2,5-7,5 mmol/L

Orina:

26 – 43 g/24 h ≈ 428-714 mmol/24 h

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el límite de detección 0,743 mg/dL hasta el límite de linealidad 400 mg/dL.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con ClNa 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

	Intraserie (n=20)		Interserie (n=20)	
Media (U/L)	37,5	120	40,0	126
SD	1,05	0,92	1,06	2,07
CV (%)	2,79	0,77	2,65	1,65

Sensibilidad analítica: 1 mg/dL = 0,00180 A.

Exactitud: Los reactivos REACTIVA SEARCH (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de regresión (r)²: 0,98209.

Ecuación de la recta de regresión: y= 1,0343x – 1,2105.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Como anticoagulante se recomienda la heparina. En ningún caso deben utilizarse sales de amonio o fluoruro.

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la urea.

NOTAS

1. UREA CAL: Debido a la naturaleza del producto, es aconsejable tratarlo con sumo cuidado ya que se puede contaminar con facilidad.
2. El material empleado, así como el agua destilada que se utilice deben estar libres de amoníaco y/o sus sales.
3. La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
4. Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.

BIBLIOGRAFÍA

1. Kaplan A. Urea. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1257-1260 and 437 and 418.
2. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
3. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
4. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
5. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTACION

CONT. R1: 1 x 160 mL, R2: 1 x 40 mL, CAL: 1 x 5 mL

CODIGO: RS29098