



UREA ENZIMATICA BIALEX

SIGNIFICADO CLINICO:

La urea es el producto final más importante del metabolismo proteico, siendo el riñón el responsable de la regulación sistémica de los niveles de urea. Constituye la mayor fracción del componente de nitrógeno no proteico de la sangre. La urea se produce en el hígado y se excreta a través de los riñones en la orina.

Las elevaciones de los niveles séricos de urea pueden interpretarse como disfunción renal, teniendo siempre en cuenta que dichos niveles se encuentran también relacionados con la dieta y el metabolismo proteico. Como consecuencia, los niveles circulatorios de urea dependen de la absorción proteica, del catabolismo de las proteínas y de la función renal. Pueden aparecer niveles de urea elevados debidos a cambios en la dieta, a enfermedades que empeoren la función renal, a enfermedades hepáticas, a un fallo cardiaco congestivo, a diabetes y a infecciones.

FUNDAMENTO DEL METODO:

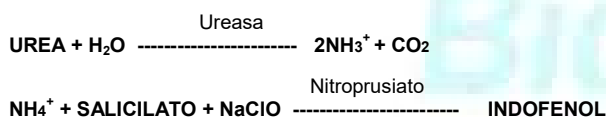
La enzima Ureasa desdobla específicamente a la urea de la muestra, produciendo dióxido de carbono y amonio.

En una segunda reacción los iones de amonio formados reaccionan con el salicilato y el hipoclorito de sodio en medio alcalino formando un compuesto de color verde (reacción de Berthelot modificada).

El Indofenol formado se puede cuantificar espectrofotométricamente de 580-600 nm.

La intensidad del color verde producida es directamente proporcional a la concentración Urea en la muestra cuando es leída a 580 nm.

PRINCIPIO:



COMPOSICION DEL REACTIVO:

- Sol. Ureasa.** - Solución estabilizada y tamponada de Ureasa de alta potencia. (Agite bien antes de usar). (x100 det 5 mL)
- Rvo. Salicilato: COLOR 1 (GQ-EU-100) o CATALYST.** - Listo para usar. Contiene: Nitroferricianuro de Na y K, estabilizantes. **Usted puede ordenar por separado con código: CHEM-NK-100 (Consulte con su Distribuidor Autorizado en su país)**
- Soda/Hipoclorito: COLOR 2 (GQ-UE-100) o REACTANT.** Listo para usar. Contiene Sodio/Hipoclorito y estabilizantes **Usted puede ordenar por separado con código: CHEM-SH-100 (Consulte con su Distribuidor Autorizado en su país)**
- Estándar de Urea 60 mg/dL.** Listo para usar.

PRECAUCIONES:

- El reactivo es solo para uso in Vitro.
- Evitar el contacto con la piel y ojos. Limpie cualquier derrame con abundante agua.
- Utilizar ropa apropiada.

GQ-UE-100	GQ-UE-125	GQ-UE-250
2x100mL+1x5mL+ 1x1 mL	2x125mL+1x5 mL+ 1x1 mL	4x125mL+1x5mL+ 1x1 mL
Método enzimático para la determinación de urea en Suero, Plasma y orina.		

ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO:

- Conservar de 2 a 8 °C.
- Todos los componentes del KIT son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, siempre que se conserven bien cerrados y se evita su contaminación durante su uso.
- No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicación de deterioro:

- Cuando el espectrofotómetro ha sido llevado a cero con agua desionizada, y la lectura del blanco es mayor a 0.200 A. a 580 nm.

ADVERTENCIAS:

1. La solución de Ureasa se debe agitar bien antes de usar.
2. Los reactivos no se utilizarán cuando no se obtienen valores esperados al usar los respectivos Controles.

COLECCIÓN Y ALMACENAJE DE MUESTRA:

- Usar suero o plasma obtenido con EDTA. De no poder realizar el ensayo refrigerar la muestra.
- La urea en suero libre de hemólisis o plasma es estable 7 días de 2 a 8°C. Se recomienda la heparina como anticoagulante.
- La muestra de orina de 24 horas debe guardarse en refrigeración durante su recolección y hasta el momento de ser procesada ya que la contaminación bacteriana produce desdoblamiento de Urea con pérdida de NH₄ por volatilización. La urea en orina es estable 3 días a temperatura ambiente si no se produce crecimiento bacteriano.
- No utilizar anticoagulante fluorados porque inhiben la enzima Ureasa.

INTERFERENCIAS:

- El flúor a concentraciones elevadas y el amonio puede causar interferencias.
- La hemólisis intensa puede producir resultados falsamente elevados que no sobrepasan el 5%. Esta interferencia puede corregirse con un blanco de suero.
- No se observan interferencias por hemólisis ligeras o moderadas y bilirrubina hasta 40 mg/dL.
- Se deben evitar los anticoagulantes que contienen amonio o sales de flúor.
- Evitar contaminaciones con amoníaco provenientes del ambiente (humo de cigarrillo, vapores amoniacales).
- Niveles de bilirrubina por arriba de 40 mg/dL, hemoglobina por arriba de 200 mg/dL y niveles de triglicéridos por arriba de 2000 mg/dL no muestran interferencia con esta prueba.

EQUIPO ADICIONAL REQUERIDO PERO NO INCLUIDO:

1. Analizador de química clínica capaz de medir absorbancia de 580-600 nm y equipo capaz de mantener temperatura constante de 37 °C.
2. Material adicional requerido: pipetas y/o micropipetas, puntas descartables, agua desionizada, cronometro.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO:

Procedimiento para el uso manual:

Técnica para Suero o Plasma

- En tres tubos marcados con B (Blanco), E (Estándar) y M (Muestra) colocar:

	BLANCO	ESTANDAR	MUESTRA
MUESTRA			10 µL
ESTANDAR		10uL	
SOL.UREASA	20uL	20uL	20uL
Incubar los tubos por 3 minutos a 37°C y luego agregar:			
Rvo. SALICILATO	1000uL	1000uL	1000uL
SODA/HIPOCLORITO	1000uL	1000uL	1000uL

- Mezclar por inmersión e Incubar durante 5 minutos a 37° C.
- Retire del baño y lea en el espectrofotómetro a 580 nm llevando a cero con el blanco de reactivo. El color es estable durante 60 minutos.

Técnica para Orina:

Se sigue la misma técnica que para sangre utilizando orina diluida con agua destilada de acuerdo a la densidad.

Como la Orina contiene cantidades variables de amoníaco debe efectuarse un blanco de orina:

Densidades 1,005 – 1,025

diluir 1/20

Densidades mayores a 1,025

diluir 1/40

- Identificar los tubos con B (Blanco), E (Estándar) y BM (Muestra) Muestra(M) colocar:

	BLANCO	ESTANDAR	BLANCO DE MUESTRA	MUESTRA
MUESTRA			...	10uL
ESTANDAR		10uL		
SOL. UREASA	20uL	20uL	20uL	20uL
Incubar los tubos por 3 minutos a 37°C y luego agregar:				
Rvo. SALICILATO	1000uL	1000uL	1000uL	1000 uL
SODA /HIPOCLORITO	1000uL	1000uL	1000uL	1000 uL
MUESTRA	...	...	10 uL	...

- Mezclar por inmersión e Incubar durante 5 minutos a 37 ° C.
- Retire del baño y lea al espectrofotómetro a 580 nm llevando a cero con el blanco de reactivo. El color es estable durante 60 minutos.

CALCULO:

Ejemplo de Calculo:

En Suero o plasma:

$$\frac{\text{Absorbancia de la muestra} \times \text{Concentración del Estándar (mg/dL)}}{\text{Absorbancia del Estándar}} = \text{Urea (mg/dL)}$$

Abs. de Muestra: 0.127

Abs. de Estándar: 0.245

Concentración del Estándar: 60mg/dL

$$\frac{0.127 \times 60 \text{ mg/dL}}{0.245} = 31.1 \text{ mg/dL Urea en plasma}$$

En Orina:

$$\frac{(\text{Abs. muestra} - \text{Abs. del Blanco Muestra}) \times \text{Conc. del Estándar} \times \text{Dilución} \times \text{Factor}}{\text{Absorbancia del Estándar}} = \text{Urea en Orina}$$

Ejemplo de Calculo:

Abs. de Muestra: 0.440

Abs. de Blanco Muestra: 0.040

Abs. del Estándar: 0.252

Concentración del Estándar: 60mg/dL

Dilución: 20

Factor de conversión: 0.01 g/l

$$\frac{(0.375 - 0.007) \times 60 \text{ mg/dl} \times 20 \times 0.01 \text{ g/l}}{0.252} = 14.1 \text{ g/L Urea en Orina}$$

Urea (g/l) x diuresis (l/24 horas) = Urea (g/24 horas)

$$14.1 \text{ g/l} \times 1.8 \text{ (l/24 horas)} = 26.1 \text{ Urea (g/24 horas)}$$

Suero o Plasma: 10 – 45 mg/dl Urea o 1.7-7.5 mmol/L Urea

Orina: 20 – 35 g/24 horas Urea o 333-583 mmol/L Urea

FACTOR DE CONVERSION:

Urea mmol/L = Urea mg/dL x 0.166

Urea mg/dL = 2.14x Nitrógeno de Urea mg/dL

Nitrógeno de Urea mg/dL = 0.466 x Urea mg/dL

Urea mmol/L = 0.356 Nitrógeno de Urea mg/dL

Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios rangos de referencia.

CALIBRACION:

Esta prueba debe ser realizada utilizando un calibrador proporcionado por Bialex, o un estándar apropiado.

CONTROL DE CALIDAD:

Se recomienda el uso de dos niveles de Suero Control con valores de Urea conocido. Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el estándar.

Cada laboratorio debe establecer su propio programa de Control de Calidad Interno, así como procedimientos de corrección.

DESEMPEÑO:

LINEALIDAD: La reacción es lineal hasta 200 mg/dl, valores superiores diluir la muestra con agua destilada y procesar de la misma forma. El resultado final debe ser multiplicado por dos, multiplicando al final por la dilución.

Límite de Detección: 4.4 mg/dL

Precisión. La precisión entrecorridas fue realizada mediante 20 ensayos con dos diferentes niveles de sueros controles comerciales.

N= 20

ENTRE ENSAYO:

	Suero 1	Suero 2
Promedio (mg/dL)	22	45
Desviación Estándar (mg/dL)	0.6	0.8
C.V. (%)	2.6	1.8

Nota: Los estudios obtenidos mediante pruebas realizadas en Stat Fax 3300

PRESENTACIÓN:

Kit x 100 Determinaciones.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:

- Henry R.J. Qca Clasicas. Bases y principios(1964)
- Bucolo G, David H. Clin chem 1973
- Faulkner, W.R.; King, J.W. - "Fundamentals of Clinical
- Watson, D., Ann Clin.Biochem. 1969
- Fossati P, Prencipe L. Clin Chem 1982
- Castelli, W.P. Et. . Circ 1977

Manufactured by Bialex®

850 E. Ohio Street Suite 12

Tucson, AZ 85714

United State of America

Phone: +1(650)7228640

eFAX: +1(520)8422001

Website: <http://www.bialexlab.com>

E-mail: info@bialexlab.com

IFU-EU

Review 01-2015

Spanish version 1.0