

UREA UV - Liquiform

Instrucciones de Uso

Ref.: 104

Finalidad . Sistema enzimático para determinación de la urea en el suero, plasma y orina por fotometría en ultravioleta usando cinética de dos puntos (tiempo fijo).

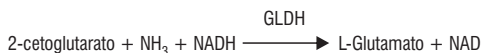
Uso Profesional.

[Solamente para uso diagnóstico in vitro.]

Principio . La urea es hidrolizada por la ureasa produciendo amoníaco y dióxido de carbono.



El amoníaco reacciona con el 2-cetoglutarato y NADH en una reacción catalizada por la glutamato deshidrogenasa (GLDH), promoviendo oxidación del NADH a NAD. La consecuente reducción de la absorbancia medida en 340 nm es proporcional a la concentración de urea en la muestra.



Características del sistema . Existen varios métodos para la determinación de la urea, pero los que utilizan acoplamiento de enzimas son más convenientes y extensivamente usados en los laboratorios clínicos.

El sistema presenta una linealidad hasta 300 mg/dL reduciéndose acentuadamente la repetición de pruebas en valores elevados. El producto de Labtest no sufre interferencias provocadas por valores mediamente elevados de bilirrubina, hemoglobina y triglicéridos.

Las sustancias utilizadas en la reacción se encuentran distribuidas adecuadamente en dos reactivos, al objeto de ofrecer mayor estabilidad en la forma líquida original y mantener las óptimas condiciones operacionales, de modo a permitir la utilización directa de los reactivos en sistemas automáticos.

La metodología monoreactiva puede ser aplicada utilizando un Reactivo de Trabajo estable 28 días bajo refrigeración, obteniéndose un desempeño adecuado incluso en situaciones de bajas demandas de la prueba. El sistema también permite preparar el volumen de Reactivo de Trabajo necesario para una medición de la concentración de la urea.

El método se aplica fácilmente en sistemas automáticos y semiautomáticos capaces de medir absorbancia en 340 nm.

Metodología . Enzimático UV.

Reactivos

1. **[R1]** - Reactivo 1 - Almacenar entre 2 - 8 °C.

Contiene tampón 20 mmol/L; pH 10,0; 2-cetoglutarato 16 mmol/L; NADH 300 a 350 $\mu\text{mol/L}$; azida sódica 30,8 mmol/L y surfactante.

2. **[R2]** - Reactivo 2 - Almacenar entre 2 - 8 °C.

Contiene tampón 380 mmol/L; pH 8,0; ureasa ≥ 50000 U/L; GLDH ≥ 3750 U/L; azida sódica 14,6 mmol/L; conservante y surfactante.

3. **[CAL]** - Estándar - Almacenar entre 2 - 30 °C.

Después de manipular sugiere que se almacena bien tapado para evitar evaporación. Contiene urea 70 mg/dL y azida sódica 7,7 mmol/L.

Los reactivos no abiertos, conservados en las condiciones especificadas, son estables hasta la fecha de expiración impresa en su rótulo. Durante el manipuleo los reactivos están sujetos a contaminaciones de naturaleza química y microbiana que pueden provocar disminución de la estabilidad.

Trazabilidad del sistema . El Estándar es trazable (rastreables) al Standard Reference Material (SRM) 912 del National Institute of Standards and Technology (NIST).

Se sugiere utilizar calibradores proteicos para la calibración de sistemas automáticos. Los productos de la línea Calibra de Labtest contienen valores de la urea trazables a los SRM 912 del NIST.

Precauciones y cuidados especiales

No utilizar el Reactivo de Trabajo cuando su absorbancia medida contra el agua en 340 nm sea igual o menor que 1,0 o cuando se muestre turbio o con señales de contaminación.

Se deben aplicar cuidados habituales de seguridad en la manipulación del reactivo.

Los reactivos y el patrón contienen azida sódica que es tóxica. Se debe tomar cuidado para evitar la ingestión y en caso de contacto con los ojos se debe lavar inmediatamente con gran cantidad de agua y procurar auxilio médico.

La azida puede formar compuestos altamente explosivos con las tuberías de plomo y cobre. Utilizar grandes volúmenes de agua para descartar los reactivos.

Materiales necesarios y no suministrados

1. Fotómetro con cubeta termostatazada capaz de medir con exactitud la absorbancia en 340 nm.
2. Pipetas para medir muestras y reactivos.
3. Cronómetro.

Influencias preanalíticas . Contaminación del agua, vidriería y ambiente con amoníaco puede producir resultados falsamente elevados. Evitar fumar en las proximidades del local de las mediciones.

Muestra

Se debe crear una instrucción de trabajo que establezca procedimientos adecuados para recogida, preparación y almacenamiento de la muestra. Subrayamos que los errores debidos a la muestra pueden ser mucho más grandes que los errores acaecidos durante el procedimiento analítico.

Usar suero o plasma (fluoruro, heparina, EDTA) y orina. No usar anticoagulantes conteniendo amoníaco. La concentración de fluoruro en la muestra no debe ser mayor que 3 mg/mL ya que el fluoruro en altas concentraciones es inhibidor de la ureasa.

El uso del anticoagulante Glistab (Labtest Ref. 29) permite la recogida de una sola muestra para las dosificaciones de urea, glucosa y creatinina.

El análisis es estable en el suero o plasma por 12 horas entre 15 - 25 °C y 3 días entre 2 - 8 °C. No utilizar muestras con señales de contaminación microbiana.

La orina de 24 horas debe ser recogida en frasco conteniendo 2,0 mL de HCl a 50 % (v/v) y centrifugada antes de usarla.

Como ninguna prueba conocida puede asegurar que muestras de sangre no transmiten infecciones, todas deben ser consideradas como potencialmente infectantes. Por lo cual, al manejarlas se debe seguir las normativas establecidas para bioseguridad.

Para deshacerse de los reactivos y del material biológico sugerimos aplicar las normativas locales, regionales o nacionales de protección ambiental.

Interferencias

Valores de bilirrubina hasta 20 mg/dL, hemoglobina hasta 300 mg/dL y triglicéridos hasta 1800 mg/dL no producen interferencias significativas.

Para evaluar la concentración aproximada de la hemoglobina en una muestra hemolisada se puede proceder como expuesto a continuación: diluir 0,05 mL de la muestra en 2,0 mL de NaCl 150 mmol/L (0,85 %) y medir la absorbancia en 405 o 415 nm, ajustando el cero con agua desionizada o destilada.

$$\text{Hemoglobina (mg/dL)} \cong \text{Absorbancia}_{405} \times 601$$

$$\text{Hemoglobina (mg/dL)} \cong \text{Absorbancia}_{415} \times 467$$

Preparo del reactivo de trabajo . El conjunto de un frasco de Reactivo 1 y un frasco de Reactivo 2 permite preparar el Reactivo de Trabajo. Transferir el contenido de un frasco de Reactivo 2 a un frasco de Reactivo 1 y homogeneizar por inversión. Apuntar la fecha de expiración.

Estable 2 días entre 15 - 25 °C y 28 días entre 2 - 8 °C cuando no ocurra contaminación química o microbiana. Identificar el frasco del Reactivo de Trabajo para evitar confusión con otros frascos del Reactivo 1.

Para preservar el desempeño el reactivo debe permanecer fuera del frigorífico solamente el tiempo necesario para obtenerse el volumen a ser utilizado. Evitar exposición a la luz solar directa.

Opcionalmente, se puede preparar menos cantidad del Reactivo de Trabajo utilizando la proporción 4 (cuatro) volúmenes del Reactivo 1 y 1 (un) volumen del Reactivo 2.

El Reactivo de Trabajo contiene también 76 mmol/L; pH 8,0; NADH 240 μmol/L; ureasa ≥ 10000 U/L; glutamato deshidrogenasa ≥ 750 U/L; 2-cetoglutarato 12,8 mmol/L y azida sódica 27,5 mmol/L.

Procedimiento

Ver precauciones y cuidados especiales.

Para la dosificación de urea en la orina, diluir la muestra 1:50 (0,1 mL de orina + 4,9 mL de agua destilada o desionizada). Multiplicar el resultado obtenido por 50.

1. Ajustar el fotómetro a la temperatura $37 \pm 0,2$ °C y la longitud de onda en 340 nm. Ajustar el cero con agua desionizada.

2. En un tubo rotulado "Prueba" o "Estándar" colocar 1,0 mL del Reactivo de Trabajo y incubar a la temperatura de trabajo durante 1 minuto.

3. Añadir 0,01 mL de Muestra o Estándar, mezclar y transferir inmediatamente para una cubeta termostatazada a $37 \pm 0,2$ °C.

4. Disparar el cronómetro y medir la absorbancia a los 30 y 90 segundos.

5. Usar la diferencia de absorbancia (ΔA) entre los dos tiempos ($A_{30} - A_{90}$) para calcular los resultados.

El procedimiento sugerido para la medición es adecuado para fotómetros cuyo volumen mínimo de solución para lectura es igual o menor que 1,0 mL. Se debe hacer una verificación de la necesidad de ajuste del volumen para el fotómetro utilizado. Los volúmenes de muestra y reactivo pueden ser modificados proporcionalmente, manteniéndose la relación muestra/reactivo 1:101 sin perjuicio para el desempeño de la prueba y el procedimiento de cálculos se mantiene inalterado. En caso de reducción de los volúmenes es fundamental que se observe el volumen mínimo necesario para la lectura fotométrica. Volúmenes de la muestra menores que 0,01 mL son críticos en aplicaciones manuales y deben ser usados con cautela porque aumentan la imprecisión de la medición.

Cálculos

$$\text{Urea (mg/dL)} = \frac{\Delta A \text{ Prueba}}{\Delta A \text{ Estándar}} \times 70$$

Ejemplo

$$A_{30} \text{ Prueba} = 1,780$$
$$A_{90} \text{ Prueba} = 1,710$$

$$A_{30} \text{ Estándar} = 1,710$$
$$A_{90} \text{ Estándar} = 1,596$$

$$\Delta A \text{ Prueba} = 1,780 - 1,710$$
$$\Delta A \text{ Prueba} = 0,070$$

$$\Delta A \text{ Estándar} = 1,710 - 1,596$$
$$\Delta A \text{ Estándar} = 0,114$$

$$\text{Urea (mg/dL)} = \frac{0,070}{0,114} \times 70 = 43$$

Debido a la gran reproducibilidad que se puede obtener con la metodología, se puede utilizar el método del Factor de Calibración.

$$\text{Factor de Calibración} = \frac{70}{\Delta A \text{ Estándar}}$$

$$\text{Urea (mg/dL)} = \Delta A \text{ Prueba} \times \text{Factor de Calibración}$$

Ejemplo

$$\text{Factor de Calibración} = \frac{70}{0,114} = 614$$

$$\text{Urea (mg/dL)} = 0,070 \times 614 = 43$$

$$\text{Urea Orina (mg/24 horas)} = \frac{\text{mg/dL} \times \text{volumen (mL)}}{100}$$

Conversión de la urea en el orina para g/24h:

$$\text{Urea (g/24 horas)} = \frac{\text{Urea (mg/24 horas)}}{1000}$$

Calibración

El Estándar es trazable (rastreables) al Standard Reference Material (SRM) 912 del National Institute of Standards and Technology (NIST).

Calibraciones manuales

Obtener semanalmente el factor de calibración.

Obtener el factor de calibración al cambiar el lote o cuando el control interno de la calidad indicar.

Sistemas automáticos

Blanco de reactivos: agua o solución del NaCl 150 mmol/L (0,85 %); Estándar: usar calibradores proteicos. Las concentraciones de la urea en los productos de la línea Calibra - Labtest son trazables al SRM 912 del NIST.

Intervalo de las calibraciones

Se debe recalibrar el sistema semanalmente y en las siguientes situaciones:

Calibración de 2 o 3 puntos al cambiar el lote;

Calibración de 2 o 3 puntos cuando el control interno de la calidad indicar.

Linealidad

El resultado de la medición es lineal hasta 300 mg/dL. Para valores mayores, diluir la muestra con NaCl 150 mmol/L (0,85 %), realizar nueva medición y multiplicar el resultado obtenido por el factor de dilución.

Control interno de la calidad . El laboratorio debe mantener un programa de control interno de calidad que defina con claridad los reglamentos aplicables, objetivos, procedimientos, criterios para especificaciones de la calidad y límites de tolerancia, acciones correctivas y registro de las actividades. Controles deben ser utilizados para evaluar la imprecisión e desviaciones de calibración. Se sugiere que las especificaciones para el coeficiente de variación máximo y el error total sean basados en los componentes de la Variación Biológica (VB)^{4,5}.

Intervalo de referencia . Estos valores deben ser utilizados únicamente a modo de orientación. Se recomienda que cada laboratorio establezca, en la población atendida, su propia banda de valores de referencia.

Suero o Plasma

Niños y Adolescentes ⁶	
Edad	mg/dL
1 día a 12 meses	2 a 34
1 a 13 años	8 a 36

Suero o Plasma

Edad	mg/dL
Adultos	15 a 45

Orina (Todas las Edades): 26 a 43 g/24 horas

Conversión: Unidades Convencionales (mg/dL) x 0,166 = Unidades SI (mmol/L)

Características del desempeño⁷

Estudios de comparación de métodos

El método propuesto se comparó con un método que utiliza tecnología similar y se obtuvieron los siguientes resultados:

	Método Comparativo	Método Labtest
Número de muestras		20
Equación de regresión	Método Labtest (U/L) = 0,994 x Comparativo + 2,24	
Coefficiente de correlación	0,999	

Usando la ecuación de regresión, el error sistemático (sesgo) fue igual a 5.25% y 1.41% para las concentraciones de 38 mg / dL y 109 mg / L, respectivamente. Los resultados del estudio comparativo cumplen con la especificación deseable para el error sistemático ($\leq 5,57\%$) según los componentes de VB4.

Estudios de precisión . Se realizaron estudios de precisión con muestras con concentraciones iguales a 31 mg / dL y 106 mg / dL de urea.

Repetitividad - imprecisión intra-ensayo

	N	Media	DE	CV (%)
Muestra 1	20	31	0,98	2,74
Muestra 2	20	106	1,22	1,12

Reproducibilidad - imprecisión total

	N	Media	DE	CV (%)
Muestra 1	20	31	1,07	3,30
Muestra 2	20	106	1,62	1,49

La especificación deseable para la imprecisión total ($\leq 6.05\%$) basada en los componentes VB se cumple para las dos muestras evaluadas⁴.

El error total (error aleatorio + error sistemático) estimado a un nivel de decisión igual a 38 mg / dL es 4,1 mg / dL o 10,87% y a un nivel de decisión igual a 109 mg / dL es 4,2 mg / dL o 3,87%. El resultado indica que el método cumple con la especificación deseable para el error total ($\leq 15,55\%$) según los componentes de VB⁴.

Sensibilidad metodológica . Utilizando la absorbancia del estándar como parámetro, se encontró que la sensibilidad fotométrica es de 0,64 mg / dL, correspondiente a una diferencia de absorbancia igual a 0,001.

Efectos de la dilución de la matriz . Se utilizó una muestra con un valor igual a 270 mg/dL para evaluar la respuesta del sistema en diluciones de matriz con una solución de NaCl 150 mmol / L (0,85%). Utilizando factores de dilución que oscilan entre 2 y 8, se encontró una recuperación promedio de 108,6%. El error sistemático medio (8,6%) cumple con la especificación deseable de Error total ($\leq 15,55\%$) según los componentes de VB⁴.

Significado clínico . La urea se eleva fisiológicamente debido a dieta hiperproteica o con la edad. Su disminución ocurre en el embarazo normal y en los individuos con dietas con bajo valor proteico y alto contenido de carbohidratos.

La disminución de la urea, que no tiene expresión clínica, puede ocurrir también en la sueroterapia con carbohidratos, debido a problemas de dilución, reducción del catabolismo proteico y aumento de la diuresis.

Elevaciones de la urea por deficiencias de excreción se deben a causas pre-renales (insuficiencia cardíaca congestiva), causas renales (nefritis, pielonefritis, e insuficiencia renal aguda o crónica). Las causas pos-renales son obstrucciones de las vías urinarias (cálculos, carcinomas o pólipos).

Elevaciones de la urea ocurren también por catabolismo elevado (fiebre, septicemia) y hemorragia interna.

Observaciones

1. La limpieza y secado adecuados del material utilizado son factores fundamentales para la estabilidad de los reactivos y obtención de resultados correctos.

2. El laboratorio clínico tiene como objetivo fornecer resultados exactos y precisos. La utilización de agua de calidad inadecuada es una causa potencial de errores analíticos. El agua desionizada o destilada utilizada en el laboratorio debe tener la calidad adecuada para cada aplicación. Así, para preparar reactivos y usar en las mediciones y para su uso en enjuague final de la vidriería, debe tener resistividad ≥ 1 megaohm.cm o conductividad ≤ 1 microsiemens/cm y concentración de silicatos $< 0,1$ mg/L. Cuando la columna desionizadora está con su capacidad saturada, se produce agua alcalina con liberación de varios iones, silicatos y sustancias con gran poder de oxidación o reducción que deterioran los reactivos en pocos días o incluso horas, alterando los resultados de modo imprevisible. Por lo cual es fundamental establecer un programa de control de la calidad del agua.

3. Para una revisión de las fuentes fisiopatológicas y medicamentosas de interferencia en los resultados y en la metodología, se sugiere consultar www.fxol.org/.

Referencias

- Bergmeyer HU. Methods of Enzymatic Analysis, vol 8, 3rd ed, Deerfield Beach: Verlag Chemie, 1985; 444-49.
- Hallett CJ, Cook JGM. Clin Chim Acta 1971;35:37.
- Tonks DB. Quality Control in Clinical Laboratories, Warner-Chilcott, Laboratories, Diagnostics Reagents Division, Scarborough, Canada, 1972.
- Desirable Biological Variation Database specifications. Disponible: <https://www.westgard.com/biodatabase1.htm> (acceso em 10/2021).
- Westgard JO, Barry PL, Hunt MR, Groth T. Clin Chem 1981;27:493-501.
- Soldin SJ, Brugnara C, Wong EC: Pediatric Reference Ranges, 5th ed, Washington: AACC Press, 2005:195-196.
- Labtest: Datos de archivo.

Presentación

Producto	Referencia	Contenido
Urea UV Liquiform	104-4/50	R11 4 x 40 mL
		R12 4 x 10 mL
		CAL 1 x 5 mL
	104-2/250	R11 2 x 200 mL
		R12 2 x 50 mL
		CAL 1 x 5 mL
Urea UV Liquiform Labmax 560/400	104-4/44	R11 4 x 35 mL
		R12 4 x 9 mL
		CAL 1 x 5 mL

Para obtener información sobre otras presentaciones comerciales, visite www.labtest.com.br o comuníquese con el Servicio al Cliente (Customer Service).

El número de pruebas para sistemas automáticos depende de los parámetros programados.

Consulte disponibilidad de aplicaciones con el Servicio al Cliente (Customer Service).

Informaciones al consumidor

[Términos y Condiciones de Garantía]

Labtest Diagnóstica garantiza el desempeño de este producto dentro de las especificaciones hasta la fecha de caducidad indicada en los rótulos, siempre que los cuidados de utilización y almacenamiento indicados en los rótulos y en estas instrucciones sean seguidos correctamente.

Labtest Diagnóstica S.A.

CNPJ: 16.516.296 / 0001 - 38

Av. Paulo Ferreira da Costa, 600 - Vista Alegre - CEP 33.240-152

Lagoa Santa . Minas Gerais Brasil - www.labtest.com.br

Customer Service | e-mail: customerservice@labtest.com.br

Edición: Julio, 1994

Revisión: Diciembre, 2021

Ref.: 280122(02)





Copyright by Labtest Diagnóstica S.A.

Reproducción bajo previa autorización

Símbolos utilizados com produtos diagnósticos in vitro

Símbolos usados con productos diagnósticos in vitro

Symbols used with ivd devices

	Conteúdo suficiente para < n > testes Contenido suficiente para < n > tests Contains sufficient for < n > tests		Risco biológico Riesgo biológico Biological risk
	Data limite de utilização (aaaa-mm-dd ou mm/aaaa) Estable hasta (aaaa-mm-dd o mm/aaaa) Use by (yyyy-mm-dd or mm/yyyy)		Marca CE Marcado CE CE Mark
	Material Calibrador Material Calibrador Calibrator Material		Tóxico Tóxico Poison
	Material Calibrador Material Calibrador Calibrator Material		Reagente Reactivo Reagent
	Limite de temperatura (conservar a) Temperatura limite (conservar a) Temperature limitation (store at)		Fabricado por Elaborado por Manufactured by
	Representante Autorizado na Comunidade Europeia Representante autorizado en la Comunidad Europea Authorized Representative in the European Community		Número do lote Denominación de lote Batch code
	Consultar instruções de uso Consultar instrucciones de uso Consult instructions for use		Controle Control Control
	Número do catálogo Número de catálogo Catalog Number		Controle negativo Control negativo Negative control
	Adições ou alterações significativas Cambios o suplementos significativos Significant additions or changes		Controle positivo Control positivo Positive control
	Produto diagnóstico in vitro Dispositivo de diagnóstico in vitro In vitro diagnostic device		Controle Control Control
	Liofilizado Liofilizado Lyophilized		Corrosivo Corrosivo Corrosive
	Periodo após abertura Periodo post-abertura Period after-opening		Uso veterinário Uso veterinario Veterinary use
	Instalar até Instalar hasta Install before		

Ref.: 140214 |