

Bioquímica Médica II

Práctica: DETERMINACIÓN DE UREA/BUN (basado en el sistema BioSystems)

GENERALIDADES

La urea solo se sintetiza en el hígado como un producto de la desaminación de los aminoácidos. Su eliminación en la orina representa la principal vía de excreción del nitrógeno. La elevación de sus valores se utiliza como indicador de disfunción de la filtración renal y es utilizado como para establecer la necesidad de diálisis en pacientes con insuficiencia renal crónica. Es considerada una prueba de función renal. La concentración sanguínea y urinaria se pueden incrementar por: la actividad muscular, traumas, infecciones, ayuno, etc). Se encuentran concentraciones elevadas de urea en plasma como consecuencia de una dieta hiperproteica, o tratamiento con glucocorticoides (uremia prerrenal).

En condiciones patológicas las concentraciones séricas de urea aumentan en: insuficiencia renal, deshidratación, inanición, úlcera péptica sangrante, insuficiencia cardiaca congestiva, choque (hipovolémico, cardiogénico, séptico, etc), tirotoxicosis, etc. El incremento en la mayoría de los casos se explica por una disminución en el índice de filtración glomerular.

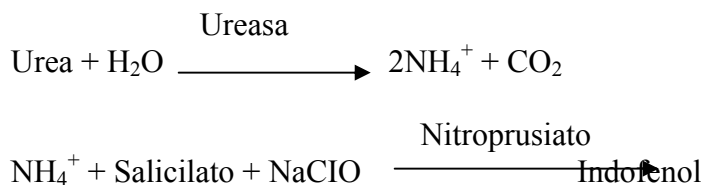
La uremia postrenal está causada por condiciones que obstruyen el flujo urinario: nefrolitiasis, tumor o hipertrofia prostática. La utilidad de la urea como indicador de la función renal está limitada por la variabilidad de su concentración plasmática como consecuencia de factores no renales.

La disminución de la urea sérica se observa, entre otras condiciones, en insuficiencia hepática, pues es en el hígado donde se sintetiza la urea.

El diagnóstico clínico no debe realizarse teniendo en cuenta el resultado de un único ensayo, sino que debe integrar los datos clínicos y de laboratorio.

FUNDAMENTO DEL MÉTODO (UREASA/SALICILATO)

La urea presente en la muestra origina, según las reacciones descritas a continuación, un indofenol coloreado que se cuantifica espectrofotométricamente.



COMPOSICIÓN

A1. Reactivo: Salicilato sódico 62 mmol/L, nitroprusiato sódico 3,4 mmol/L, tampón fosfatos 20 mmol/L, pH 6,9.

A2. Reactivo: Ureasa > 500 U/mL.

B. Reactivo: Hipoclorito sódico 7 mmol/L, hidróxido sódico 150 mmol/L.

Irritante (Xi): R36/38: Irrita los ojos y la piel. S26: En caso de contacto con los ojos, lávense inmediata y abundantemente con agua y acúdase a un médico. S37/39: Úsense guantes adecuados y protección para los ojos/la cara.

S. Patrón de Glucosa/Urea/Creatinina: Glucosa 100 mg/dL, urea 50 mg/dL (8,3 mmol/L, BUN 23,3 mg/dL), creatinina 2 mg/dL. Patrón primario acuoso.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Reactivo (B) y Patrón (S): Están listo para su uso.

Reactivo (A): Vaciar el contenido de un vial de Reactivo A2 en un frasco de Reactivo A1. Homogeneizar. Si se desea preparar otros volúmenes, mezclar en la proporción: 1 mL Reactivo A2 + 24 mL Reactivo A1. Estable 2 meses a 2-8° C (Nota 2).

MUESTRAS

Suero, plasma u orina recogidos mediante procedimientos estándar. Diluir la orina 1/50 con agua destilada antes del ensayo.

La urea en suero o plasma es estable 7 días a 2-8° C. Se recomienda la heparina como anticoagulante.

La urea en orina es estable 3 días a temperatura ambiente si no se produce crecimiento bacteriano.

PROCEDIMIENTO

1. Colocar los reactivos a temperatura ambiente.
2. Pipetear en tubos de ensayo:

	Blanco	Patrón	Muestra
Patrón de urea (S)	-	10 µL	-

Muestra	-	-	10 µL
Reactivo (A)	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

3. Agitar bien e incubar los tubos durante 10 minutos a temperatura ambiente (16-25° C) o durante 5 minutos a 37° C.

4. Pipetear:

	Blanco	Patrón	Muestra
Reactivo (B)	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

5. Agitar bien e incubar los tubos durante 10 minutos a temperatura ambiente (16-25° C) o durante 5 minutos a 37° C.

6. Leer la absorbancia (A) del Patrón y de la Muestra a 600 nm frente al Blanco. El color es estable durante al menos 2 horas.

CÁLCULOS

La concentración de urea en la muestra se calcula a partir de la siguiente fórmula general:

$$\frac{A_{\text{muestra}}}{A_{\text{patrón}}} \times C_{\text{patrón}} \times \text{Factor de dilución muestra} = C_{\text{muestra}}$$

Si se utiliza para calibrar el Patrón de Urea suministrado:

Suero y Plasma	Orina
x 50 = mg/dL urea	x 2500 = mg/dL urea
x 23,3 = mg/dL BUN	x 1165 = mg/dL BUN
x 8,3 = mmol/L urea	x 415 = mmol/L urea

VALORES DE REFERENCIA

Suero y plasma: 15-39 mg/dL urea = 7-18 mg/dL BUN = 2,5-6,5 mmol/L urea. En el periodo neonatal las concentraciones son inferiores mientras que en personas mayores de 60 años se encuentran valores superiores a los adultos. Las concentraciones también tienden a ser ligeramente superiores en hombres que en mujeres.

Orina: 26-43 g/24-h urea = 12-20 g/24 h BUN = 428-714 mmol/24-h urea

Estos valores se dan únicamente a título orientativo; es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios intervalos de referencia.

CARACTERÍSTICAS METROLÓGICAS

- Límite de detección: 1,3 mg/dL urea = 0,60 mg/dL BUN = 0,21 mmol/L urea
- Límite de linealidad: 300 mg/dL = 140 mg/dL BUN = 50 mmol/L urea. Cuando se obtengan valores superiores, diluir la muestra 1/5 con agua destilada y repetir la medición.
- Interferencias: La lipemia (triglicéridos 10 g/L) y la bilirrubina (20 mg/dL) no interfieren. La hemólisis (hemoglobina 2 g/L) y niveles elevados de amonio interfieren. Otros medicamentos y sustancias pueden interferir.