

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

---

FACULTAD DE QUIMICA

MICROTECNICA PARA LA DETERMINACION  
DE UREA A PARTIR DE TECNICA  
DE AUTOMATIZACION

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

QUIMICO FARMACEUTICO-BIOLOGO

P R E S E N T A

ANA MARIA CORDOVA ISLAS



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CLASS \_\_\_\_\_  
NO. 1973  
PCNA \_\_\_\_\_  
REC. TESTS

Her. 72



QUINING

A MIS PADRES :

CON INMENSO CARIÑO

A QUIENES DEBO TODO LO QUE SOY.

CON AGRADECIMIENTO

A MIS MAESTRO Y HERMANOS

EN ESPECIAL A MI HERMANA MARTHA.

El presente trabajo se realizó en el  
Laboratorio del Hospital General -  
"Lic. Adolfo López Mateos"  
dependiente del I. S. S. S. T. E.  
bajo autorización del  
C. Dr. SERGIO SANCHEZ CORONA,  
Jefe del Servicio.

Dirigida por el Doctor en Ciencias  
FRANCISCO ESPARZA HERRADA.  
"A quien agradezco sus finas aten-  
ciones y orientaciones".

Supervisión Técnica:

Clínica Bióloga

MA. ANTONIETA GARZA DE MOLINA.

"Expresándole mi gratitud que  
ampliamente se merece".

2

APARATOS UTILIZADOS :

Autoanalizador Technicon Bicanal

Autoanalizador Technicon S.M.A. 6/60

\* I N D I C E \*

- 1.- INTRODUCCION.
  - 1.1.- Justificación.
  - 1.2.- Urea, ciclo y enfermedades.
  - 1.3.- Métodos de Determinación. (Historia)
  
- 2.- FUNDAMENTOS.
  - 2.1.- Autoanalizador Technicon Bicanal.
  - 2.2.- Autoanalizador Technicon S.M.A. 6/60
  
- 3.- MATERIAL.
  - 3.1.- Lista del material y reactivos.
  - 3.2.- Microtécnica propuesta.
  
- 4.- METODOS.
  - 4.1.- Concentración del Reactivo.
  - 4.2.- Tiempo de Ebullición.
  - 4.3.- Estabilidad de la Reacción.
  - 4.4.- Espectrograma.
  - 4.5.- Curva Patrón (Microtécnica)
  - 4.6.- Curva Patron (Autoanalizador)
  
- 5.- RESULTADOS Y DISCUSION.
  - 5.1.- Parte Estadística.
  
- 6.- CONCLUSIONES.
  
- 7.- BIBLIOGRAFIA.

1.- I N T R O D U C C I O N

1.1.- JUSTIFICACION :

Se considera de gran utilidad para los laboratorios que trabajan normalmente con equipos autoanalizadores contar con la técnica manualizada del autoanalizador adaptada a microtécnica.

Esto permite que los resultados que se obtienen en análisis de emergencia, o en los casos que el autoanalizador presenta problemas sean comparables con los resultados normales, además al utilizar los mismos reactivos los costos se reducen considerablemente.

1.2.- UREA, CICLO Y ENFERMEDADES :

## UREA DE LA SANGRE:

La urea es el principal producto de excreción del catabolismo proteínico, y se forma en el organismo a partir de anhídrido carbónico, mediante un proceso bioquímico que se conoce con el nombre de "CICLO DE ORNITINA o de KREBBS Y HENSELEIT".

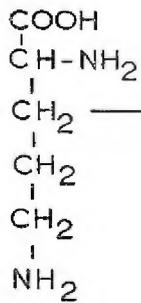
La porción principal de la urea sanguínea se forma en el hígado a partir del amoníaco proveniente de la degradación desaminativa de los aminoácidos.

Este amoníaco se conjuga con anhídrido carbónico, unión - que se verifica con intermedio de aminoácidos diamino-monocarbónicos y sistemas enzimáticos, según expresó Krebs.

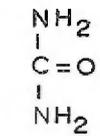
Una vez elaborada la urea pasa a la sangre y se excreta - por el glomérulo, reabsorbiéndose en parte por los túbulos.

La urea sanguínea (o el nitrógeno de la urea) puede aumentar por diversas razones. Estas causas pueden ser:

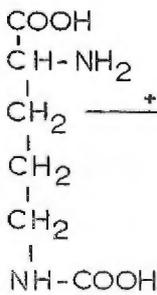
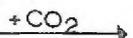
- a) Pre-renales, como son los estados en los cuales se altera la circulación por el riñón; shock quirúrgico, - enfermedad de Adison, insuficiencia cardiaca derecha, hemorragia, en especial del tubo digestivo, con digestión y catabolismo de sangre, etc.,
- b) Renales, enfermedad de Bright, insuficiencia renal - aguda y crónica, Glomérulo-nefritis.
- c) Post-renales, obstrucción de las vías urinarias, como en la hipertrofia prostática, deformaciones o malformaciones congénitas, etc.,



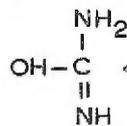
ORNITINA



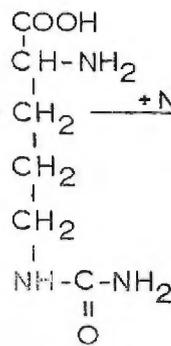
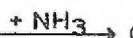
UREA ESTABLE



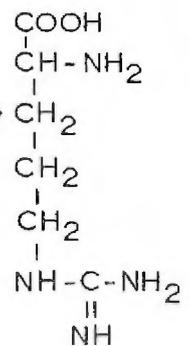
DELTA CARBAMINO  
ORNITINA



UREA LABIL



CITRULINA



ARGININA



También en quemaduras, estado de choque, obstrucción intestinal, fiebres agudas, peritonitis, hemocentraciones, etc.,

El término que se emplea para designar un aumento de la cifra sanguínea de urea es azoemia; la palabra uremia designa el trastorno clínico constituido por insuficiencia renal con azoemia.

Debe recordarse que esta distinción no es solamente académica, según puede verse en la clasificación que antecede e ilustra también en el hecho de que la urea no es la substancia que produce todas las manifestaciones de la uremia. A consecuencia de la gran capacidad de los riñones para compensar un posible daño, puede existir una enfermedad renal bastante importante antes de que aparezca azoemia.

1.3.- METOS DE DETERMINACION. (HISTORIA)

Es tal la variedad de técnicas que se han propuesto para la determinación de urea, que el tratar de sistematizarlas para su estudio, constituye por sí mismo un problema, y tal vez la clasificación para dichos métodos es la propuesta por Marenzi, en los siguientes grupos:

- a) Reacciones de Coloración.
- b) Reacciones de precipitación.
- c) Reacciones de descomposición.

de acuerdo con el tipo de proceso en que se basan.

Entre los primeros el que ha dado mejores resultados es el que produce una coloración amarilla por la reacción de la urea y la diacetil monóxima en medio ácido (Reacción de Fearon); otras - tienen resultados menos satisfactorias, como ocurre en la reacción Furfural (Reacción de Schiff); con metil-furfurilo (Fenton) pdimetilamino benzaldehído (Reactivo de Ehrlich); resorcina y ácido - - clorhídrico (Arreguine).

Los métodos por precipitación de la urea, también son numerosos, y como principales están la formación de precipitados con - nitrato mercurico (Liebig), con ortonitro banzaldehído (Ludy), con Xanthidrol (Fosse), etc.,

Entre los métodos de descomposición tenemos los gasométricos, como el estudiado por Claus con ácido nitroso, según la reacción:



También la descomposición por hipobromito:

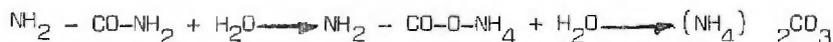


Esta es frecuentemente usada en otros países, no así en México, en donde es utilizada más bien para cuanteo de urea en orina.

Descomposición en soluciones ácidas o alcalinas en caliente, como por ejemplo: en autoclave (Leiboff-Kahn)

La descomposición por enzimas (ureasa), es de los procesos más usuales en nuestro medio, ya sea que el amoníaco formado o sea cuanteadó por titulació (Van-Slyke) o por Nesslerización (Folin) con o sin previa destilación.

Según Summer, la urea, por la acción de la ureasa se tránsforma primero a carbamato de amonio y después este se convierte en carbonato de amonio por la adición de una molécula de agua a cada fase.



Veremos los principales métodos que emplean ureasa y después de coloración directa, como son el de Barker con diacetyl monoxima; Folin Wu, como más exacto Van Slyke Cullen Marshall, más simple el de Karr, Micrométodo de Keller; sin ureasa Leiboff Kahn; y sin nesslerización el de Barker, y por último la modificación de Marsh y asociados.

Mediación de Nitrógeno de la urea Sanguínea.

Fundamento.

La sangre se diluye con sulfato de sodio isotónico para que las sustancias intracelulares (sobre todo ergotionina y Glu-tation) que forman productos insolubles con la solución de Nessler se queden en las células intactas y se eliminan junto con el precipitado de proteínas. La sangre siluída es digerida con la enzima

ureasa, que transforma toda la urea en carbonato de amonio:



Después de eliminar las proteínas y las células por precipitación y centrifugación sobre nadante, se trata con la solución de yoduro doble de Nessler (yoduro mercurico yoduro de potasio en medio alcalino, que forma un complejo amarillo con el amonio del carbonato. La intensidad del color es directamente proporcional a la cantidad de amonio, y por lo tanto, a la cantidad de urea de la muestra de sangre.

Entre los métodos más usados tenemos los:

#### TECNICA DE DRMSBY :

La ureasa reacciona con la 2,3 butanediona 2 oxima, en un medio ácido y se produce un complejo de color amarillo cuya intensidad es proporcional a la cantidad de urea presente:

V. N. (26 - 32 mg/100 ml. de sangre).

UREA (Mac Fate)

#### METODO ESPECTROFOTOMETRICO :

Un filtrado libre de proteínas se trata con ureasa, con el objeto de convertir la urea a carbonato de amonio.

El amonio se determina por Nesslerización directa en la presencia de persulfato y gluconato como estabilizadores de acuerdo como lo recomienda Gentzakow, pero usando el reactivo de Koch - Mc Meekin Nessler.

Las determinaciones colorimétricas se hacen a una longitud de onda 490-510 m.u., con el objeto de reducir al mínimo la inter-

ferencia de otras sustancias distintas al amonio que pudieran encontrarse en el filtrado.

#### METODO DE MICRODIFUSION. (CONWAY)

La urea en sangre total o suero se convierte a carbonato de amonio por la acción de la ureasa en un aparato especial de microdifusión .

El amonio liberado por la adición del carbonato de potasio es absorbido en ácido bórico puesto en la celda del aparato. El amonio difundido se determina por titulación directa con un estándar de ácido.

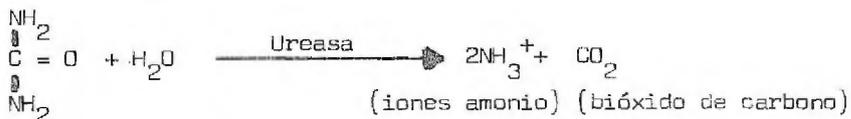
#### METODO BUN STRATE:

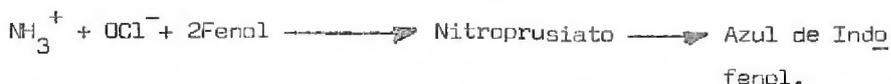
Es un método colorimétrico para determinación cuantitativa indirecta de nitrógeno uréico sanguíneo (BUN).

La conversión de la urea a iones amonio por la ureasa, con el análisis subsecuente de los iones amonio, por el método modificado de Berthelot, combina una absoluta especificidad con una adecuada sensibilidad, para microdeterminaciones.

La ureasa se envasa en forma liofilizada y estable y se prepara para usarse rápidamente reconstituyéndola con agua destilada. Los reactivos para las determinaciones de iones amonio se envasan separadamente para asegurar una máxima estabilidad.

#### MECANISMO:





#### METODO PROPUESTO:

El método para determinar nitrógeno de urea de Walton H. - Marsh y colaboradores en : los Métodos Directos y Automatizados para la determinación de urea en sangre. (Clin Chemy. XI) ( 1965) 624-627.

En este método colorimétrico la reacción se forma cuando - la urea esta en solución ácida relativamente débil, reacciona con la diacetil monoxima en presencia de la tiosemicarbazida e ión férrico que intensifican la reacción, la mezcla se lleva a baño maría a ebullición para el desarrollo del color, leyendo en el colorímetro a 520 mu; ésta es la reacción que utilizaremos para la micro-técnica que proponemos.

#### DESCRIPCION DEL METODO PROPUESTO:

El proceso descrito por Marsh W.H. Fingerhut, B, Miller en el Clinical Chemistry 11/624 (1964), para la determinación manual - de nitrógeno de urea, modificado para los autoanalizadores, describe su técnica original a partir de un filtrado libre de proteínas, utilizando como desproteinizante, solución ácido tricloroacético al 10%.

#### MATERIAL BIOLÓGICO:

Suero, plasma o sangre completa.

#### TECNICA:

A 0.2 ml. de filtrado libre de proteínas, agregar 3.0 ml. - de reactivo de color en un tubo de ensaye 13 x 100, agitar y meter

a baño maria de ebullición por 20 min., enfriar a temperatura ambiente, leer contra blanco de reactivo en 520 m.u., a los 15 min.

REACTIVOS:

Reactivo de color:

Reactivo Acido	20.0 ml.
Agua destilada	20.0 ml.
D. A. M. al 2.5%	1.0 ml.
T. S. M. al 0.25%	1.25 ml.

Reactivo Acido:

Acido Sulfúrico concentrado	8.0 ml.
Acido Ortofosfórico al 8.5%	1.0 ml.
Agua Destilada.	100.0 ml.
Cloruro Férrico Acido	1.0 ml.

Solución de Cloruro Férrico Acido:

Solución de cloruro férrico al 5%	1.0 ml.
Acido Sulfúrico concentrado.	1.0 ml.

Los reactivos utilizados en el autoanalizador bicanal son:

BUN color y

BUN Acido

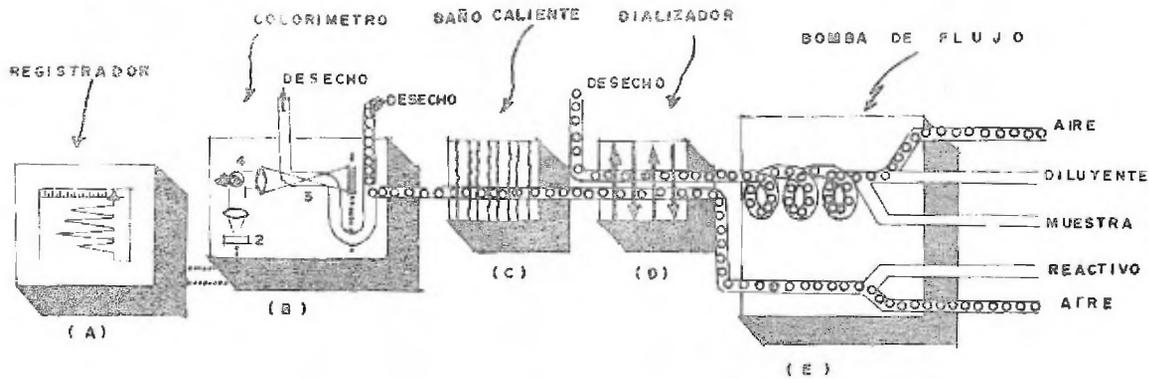
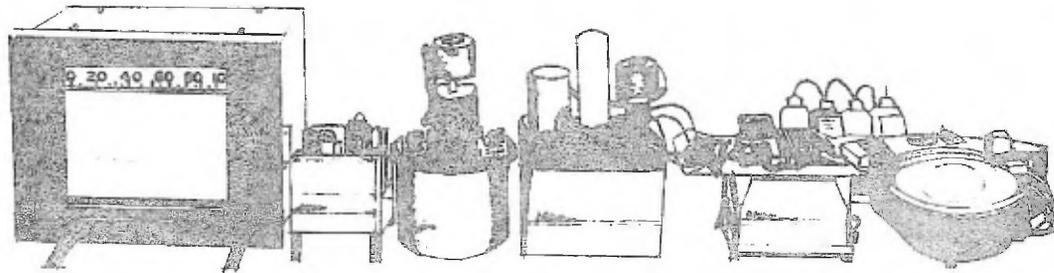
el reactivo de color esta en la misma concentración que la técnica original, no así el BUN ácido, que esta mucho más concentrado. Por otra parte la cantidad de reactivos que se utiliza para cada muestra, es la siguiente:

Suero, plasma o sangre completa	0.4 ml.
BUN Color	1.6 ml/min.
BUN Acido	2.5 ml/min.

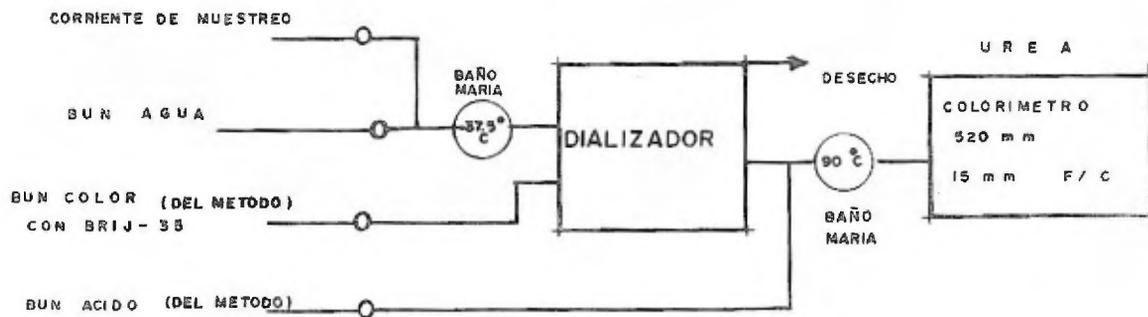
## 2.- F U N D A M E N T O S

**SISTEMA DE AUTOANALIZADOR**

- A )... MODELO DE REGISTRADOR DE SERIE EN PICOS
- B )... BORBUJAS DE AIRE RETIRADAS DESPUES DE QUE LA SOLUCION COLOREADA ENTRA A LA CELDA DE FLUJO DONDE LA INTENSIDAD DEL COLOR ES MAS INTENSA
- C )... COLOR DESARROLLADO POR LA ALTA TEMPERATURA CONSTANTE DEL BAÑO
- D )... CONSTITUYENTES DIFUSIBLES DE LAS MUESTRA PASAN A TRAVES DE LA MEMBRANA SEMI-PERMEABLE LOGRANDO ASI LA SEPARACION-DESPROTEINIZACION DE ESTA
- E )... LOS FLUIDOS SON ASPIRADOS Y MEZCLADOS PROPORCIONALMENTE



2.1.- AUTOANALIZADOR TECHNICON BICANAL :



## PRUEBAS SIMULTANEAS DE GLUCOSA BUN Y/O NITROGENO DE UREA:

### DESCRIPCION GENERAL

El procedimiento de auto-analizador para determinar simultáneamente la glucosa y el nitrógeno de urea, se ha adaptado de — los métodos individuales, usando una técnica de diálisis simultánea.

El método del auto-analizador del nitrógeno de la urea, es una versión ligeramente modificada de los procedimientos descritos por Marsh, W. H. y Miller, H.

El procedimiento para determinar el nitrógeno de urea en — sangre, es una modificación de la reacción de diacetylcarbámidá — aplicada a la determinación del nitrógeno de la urea.

Esta basado en una reacción directa de urea y diacetyl-mo-noxima en condiciones ácidas. La presencia de tiosemicarbazida intensifica el color de los productos de la reacción, y nos lleva — a la determinación sin necesidad de reactivos ácidos concentrados.

La tiosemicarbazida intensifica la formación de la reacción coloreada y su producto se mide a 520 mu. en una celdilla de flujo tubular de 15 mm., el color que se obtiene es un rosa tirando a ro-sa mexicano.

Para estos métodos simultáneos se utilizan los siguientes — módulos:

- 1.- Muestreador,
- 2.- Bomba de Flujo.
- 3.- Dializador.
- 4.- Baño de Calentamiento.

5.- Colorímetro.

6.- Registrador.

### 1.- MUESTREADOR:

Esta primera unidad tiene una plataforma circular con movimiento giratorio, con espacios para 40 recipientes de muestra.

Los recipientes para muestras son de plástico, hay de diferentes tamaños y capacidad, según la cantidad de muestra necesaria para cada análisis; en este trabajo empleamos de 1.6 ml. de capacidad.

Al girar la plataforma, las muestras son tomadas automáticamente, una a una, aspirando con una pipeta la cantidad necesaria, en volumen uniforme.

### 2.- BOMBA DE FLUJO:

Parte esencial de este sistema de análisis de flujo continuo es la Bomba de Flujo, con su conjunto de tubos capilares conductores calibrados para proporcionar muestra y reactivo en volumen constante. Existe una variedad de tubos de plástico conductores de diferente diámetro interno y calibrados uniformemente, y que los clasifica en la siguiente manera:

Tubos No.	Flujo de	Color	Diámetro	ml/ml
1	Muestra	Naranja-Naranja.	0.020 cm.	0.16
2	Aire	Amarillo	0.056 cm.	1.60
3	Diacetilmonoxima	Morado-Naranja.	0.100 cm.	3.40

Tubos No.	Flujo de	Color	Diámetro	ml/ml
4	Solución Salina.	Morado-Naranja.	0.100 cm.	3.40
5	Ferricalum	Morado-Naranja.	0.100 cm.	3.40

En equipo tiene conexiones y serpentines para mezcla, necesarios para cada una de las determinaciones.

La bomba proporciona continuamente y con precisión, introduce, distribuye y mezcla las muestras, los reactivos, el aire; y los impulsa a través de todas y cada una de las unidades del sistema.

Tiene una plataforma constituida por una placa, rodeada de 5 rodillos paralelos en cadena que ruedan a su alrededor al ponerse en contacto en posición con otra plataforma de baquelita que está unida a la bomba y que presiona; el sistema tiene movimiento regulado en la parte superior por el paso de los rodillos, ya que dos de ellos siempre están en contacto con la plataforma; y por la parte inferior unos resortes que ejercen presión constante regulan el sistema de bombeo.

Los tubos quedan entre la plataforma de baquelita y los rodillos, estos al moverse sobre la placa abren y cierran la luz de los tubos, y debido a esta acción mecánica los líquidos penetran al sistema en las cantidades requeridas para el análisis exactamen

te medidos.

### 3.- DIALIZADOR:

Esta unidad se forma por dos juegos de platos de polietileno, cada plato tiene un canal en espiral y coinciden en su forma, van separados por una membrana semi-permeable de celofán.

Está colocada dentro de un baño de agua a 370°C con un termoregulador y un agitador, para mantener su temperatura constante uniforme.

Una porción de la concentración total de los constituyentes difusibles de las muestras, pasan a través de la membrana semi permeable, logrando así, la separación despoiteinización de éstas.

### 4.- BAÑO DE CALENTAMIENTO:

En esta unidad se llevan a cabo las reacciones químicas, y por lo tanto, el desarrollo de color.

Esta formado por un serpentín de 13 metros de longitud, — que esta sumergido en un baño de aceite a 93°C, con termo regulador.

### 5.- COLORIMETRO:

Es donde se hace la medición del color producido por la reacción.

Es un sistema de doble haz, con cubeta de flujo continuo. Las partes de este módulo, según esquema, son:

- a) Fococelda de la muestra.



- b) Fococelda de la referencia.
- c) Cubeta de flujo continuo.
- d) Fuente luminosa.

#### 5.- REGISTRADOS:

En esta parte se inscriben los resultados de cada una de las determinaciones, en por ciento de transmisión, formándose una gráfica en la que aparecen picos aislados para cada una de las — muestras.

Por lo antes descrito, continuamente se mide y compara — gráfica-nivel-patrón, el nivel de concentración conocida de un componente dado, preparada con la solución de prueba de concentración conocida de ese componente, o solución "tipo" de control.

A través del sistema todas las condiciones se mantienen — iguales en todo tiempo, cada muestra o tipo sometidos a procedimiento analítico idénticos, como tiempo, nivel de temperatura, área de exposición.

Continuamente se introducen burbujas de aire en el flujo — para separar las muestras sucesivas de cada una de las corrientes de reactivo y facilitar la limpieza del sistema. La introducción de aire, sirve para un doble propósito:

a) Proporcionar una barrera entre las muestras cuando fluyen a través del sistema, evitando que una muestra contamine a la otra.

b) Limpiar el sistema frotando continuamente las paredes del tubo. Así el sistema es auto-limpiado, y se puede asegurar la identidad e integridad de la muestra.

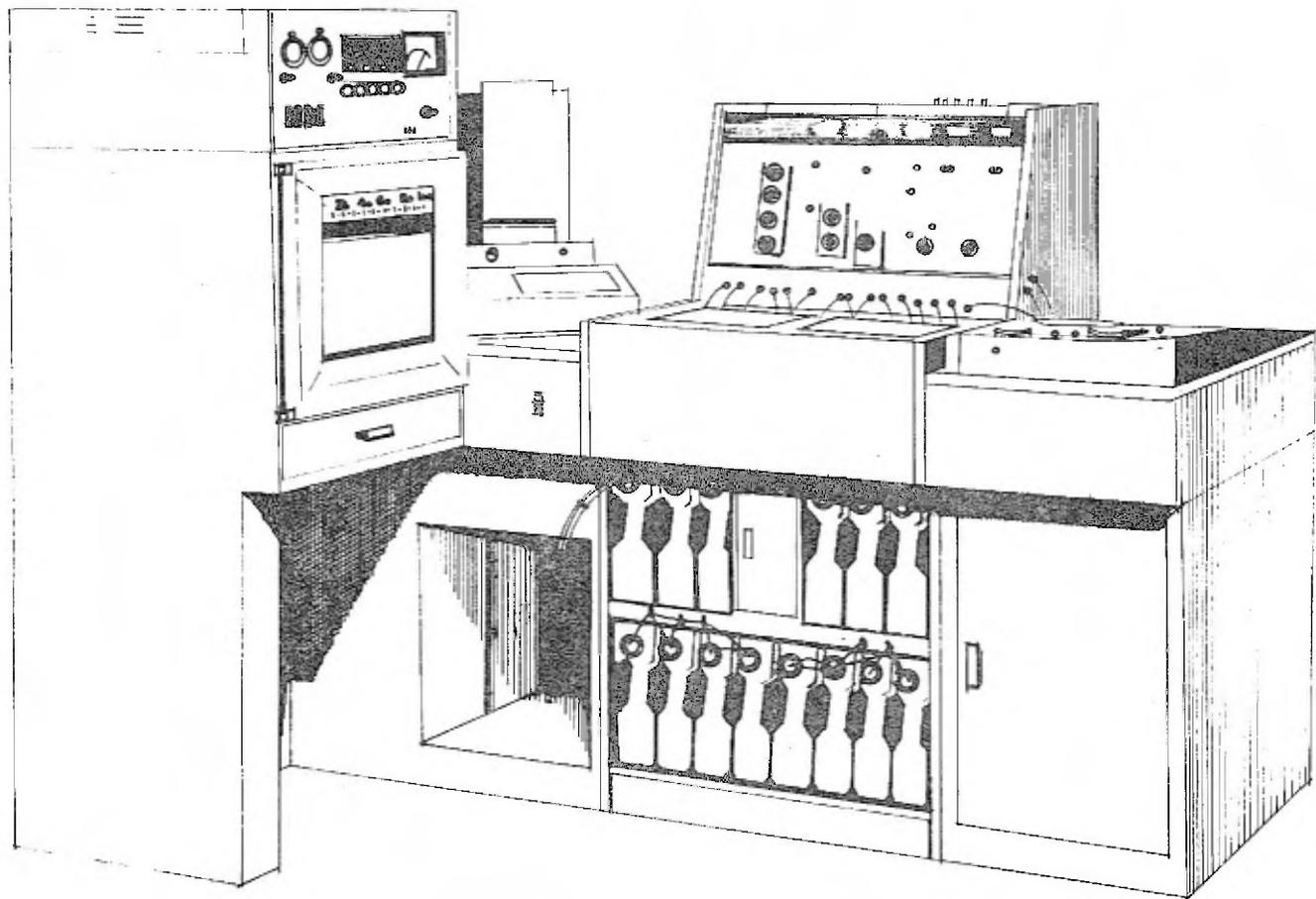
Como el "auto-analizador" está construido en tal forma -- que las lecturas las proporciona en por ciento de transmitancia , las concentraciones son inversamente proporcionales al logaritmo de cada lectura, y con objeto de evitar cálculos para hacer más -- práctico el análisis, se trazan gráficas-nivel-patrón, con las soluciones tipo de diversas concentraciones preparadas como ya se -- indicó, y de las gráficas que se obtengan, se sacan las equivalencias de las concentraciones de los problemas, interpolando en ella lecturas que se obtengan.

En los siguientes esquemas se resumen las funciones de cada unidad del aparato descrito y la gráfica obtenida para concentraciones conocidas.

#### BICANAL .--

Proceso para la determinación de urea en el bicanal:

La muestra es aspirada por medio de una pipeta metálica -- especial, se diluye con Sol-Salina y se segmenta por medio de burujas de aire y es movida la corriente por una bomba que practicamente empuja a las líneas que llevan los reactivos. La muestra pasa primero a un dializador donde se desproteíniza la muestra y después de una segunda diálisis se mezcla con el reactivo BUN Color más adelante con el BUN Acido entran juntos a un baño de ca -- lentamiento de 95°C, donde se lleva a cabo la reacción y se lee -- con un colorímetro a 520 m.μ. en una celdilla tubular de 15 mm.



EL ANALIZADOR DE SECUENCIA MULTIPLE S M A 6 / 6 0

2.2.- AUTOCANALIZADGR TECHNIOGN S.M.A. 6/EG

Se le realizó análisis al suero de un perro, los siguientes:

Cloruros,  
Bioxido de carbono,  
Potasio,  
Sodio,  
Nitrógeno de urea,  
Glucosa.

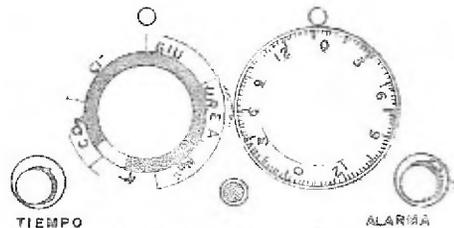
La muestra de suero es de 0.6 ml. Los resultados se inscriben por una pluma sobre papel pre-calibrado.

El sistema se calibra contra sueros o soluciones de referencia, por ejemplo: Versatrol, Labtrol, etc.,

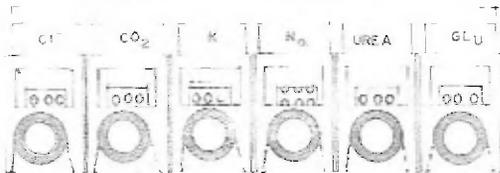
Consta de los siguientes módulos:

Muestreador III  
Bombas proporcionadoras,  
Colorímetro múltiple,  
Programador,  
Fotómetro de flama,  
Registrador,  
Distribuidor ó Manifold,  
Válvulas de lavado,  
Baño de calentamiento de 37° C.

Solamente nos ocuparemos del diagrama y flujo del sistema para la determinación de nitrógeno de urea y la descripción de 2 - de los módulos: Colorímetro y Programador.



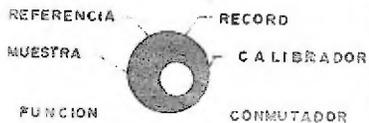
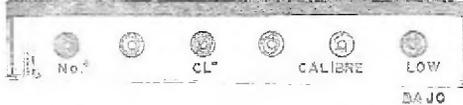
CALIBRADOR ESTANDAR



LINEA DE BASE CERO AJUSTE DE DENSIDAD OPTICA



FILAMENTO EXPANSION ALTO BAJO ALTO



SMA 6/60 PROGRAMADOR

## COLORIMETRO MULTIPLE:

El colorímetro usado en el S.M.A. 6/60, es un colorímetro de 5 canales.

Este colorímetro contiene un canal de referencia y 4 de muestra. Cada uno de los canales tiene su propio sistema óptico equipado de lentes, con aperturas variables, filtros separados, celdillas tubulares, fototubos.

En el colorímetro la fuente de luz común es una lámpara, con filamento de tungsteno. Esta lámpara esta montada dentro de una lámpara, la cual tiene una hendidura para la luz.

Las señales producidas dentro del colorímetro por cada uno de los foto-tubos de la muestra y las señales producidas por los foto-tubos de referencia son las potencias del colorímetro.

## PROGRAMADOR:

El programador comprende las siguientes operaciones:

a) Los monitores de secuencia y la potencia de los pre-amplificadores del colorímetro y del fotómetro de flama. En los canales colorimetricos, pero no los canales de flama, la señal se convierte de rendimiento longitudinal a rendimiento lineal, también, los rendimientos de los canales de Cl. y Na. son expendidos electrónicamente.

b) Transfiere estas señales al amplificador registrador.

c) Controla el promedio de muestreo.

d) Proveé de una alarma audible a intervalos de 10 min. - para ratificar al operador de la necesidad de checar los valores - de la muestra de referencia.

e) Produce señales internas ajustables que ayuda para con- trolar la expansión.

f) Proveé ajustes para compensar por medio eléctricos o - químicos lo que puede aparecer durante el manejo normal del siste- ma.

#### NITROGENO DE UREA EN SANGRE (BUN) :

METODO SMA 6/60 :

Es una modificación de Walton H. Marsh y Colaboradores en - el "Manual de Métodos Directos y Automatizados para la Determinación de urea en Sangre", Clinical Chemistry, XI, (1965), 624-627.

En este método se forma un producto coloreado cuando la urea que está en una solución ácida, relativamente débil, reacciona con - diacetil monoxima.

La tiosemicarbazida en presencia de ión férrico intensifi - can el color de la reacción. La mezola se calienta a 90°C. para de- sarrollar color, y se lee en una celdilla de flujo de 15 mm l g. x 1.5 mm. de diámetro interno, a 520 m.u.

MUESTREADOR	
127-AD1-01	MUESTREADOR III DE CENSO 60 Hz
127-AD3-02	MUESTREADOR III DE CENSO 50 Hz
127-AD11-03	MUESTREADOR III NO CENSO 60 Hz
127-AD11-04	MUESTREADOR III NO CENSO 50 Hz
127-AD1-05	MUESTREADOR III FORMA SIMULTANEA 60 Hz
127-AD1-06	MUESTREADOR III FORMA SIMULTANEA 50 Hz

BOMBA	
133-AD4-03	BOMBA III VELOCIDAD UNICA 60 Hz
133-AD5-03	BOMBA III VELOCIDAD UNICA 50 Hz

FLAMA	
110-AD3-04	FLAMA IV TANQUE DE GAS NATURAL
110-AD3-06	FLAMA IV GAS PROPANO

PROGRAMADOR	
177-AD00-01	PROGRAMADOR 60 Hz
177-AD00-02	PROGRAMADOR 50 Hz

LINEA DE DESECHO	
177-BO10-01	LINEA DE DESECHO W / JERRY JUB
177-BO10-02	LINEA DE DESECHO W / DERAGUE DE PISO
177-BO10-03	LINEA DE DESECHO W / DUBLE DERAGUE DE PISO

ESTABILIZADOR	
18-AD07-01	ESTABILIZADOR 60 Hz
18-AD07-02	ESTABILIZADOR 50 Hz

NOTA

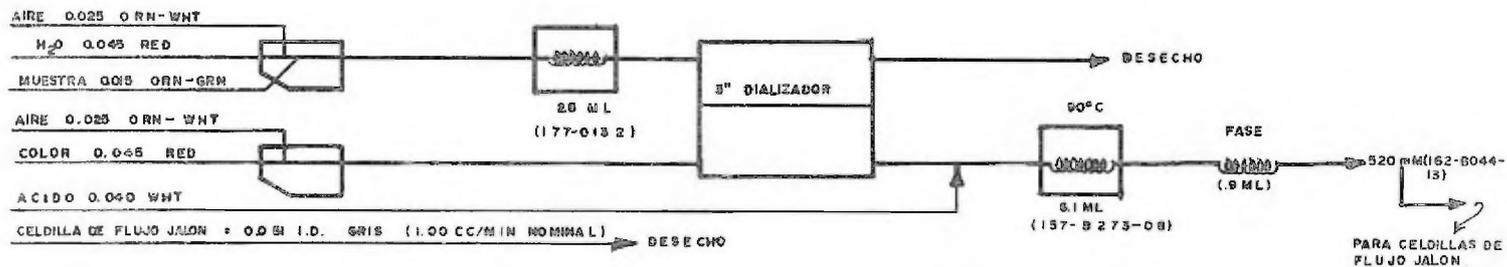
DEBERA CHECARSE UNO EN CADA GRUPO  
EXCEPTO:  
A. MUESTREADOR. NO SE NECESITA PARA EL  
USO SIMULTANEO.

B. TRANSFORMADOR. SOLAMENTE PARA 50 Hz

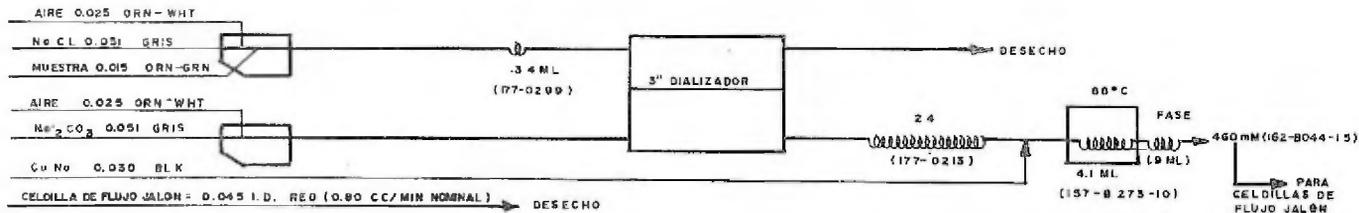
SMA 6/60 UNIDAD BASICA	
177-AD01-01	SMA 6/60 TRABAJO SENCILLO
177-AD01-02	SMA 6/60 EN FORMA SI- MULTANEA

TRANSFORMADOR	
161-031	TRANSFORMADOR BAJO 115V 50 Hz

UREA

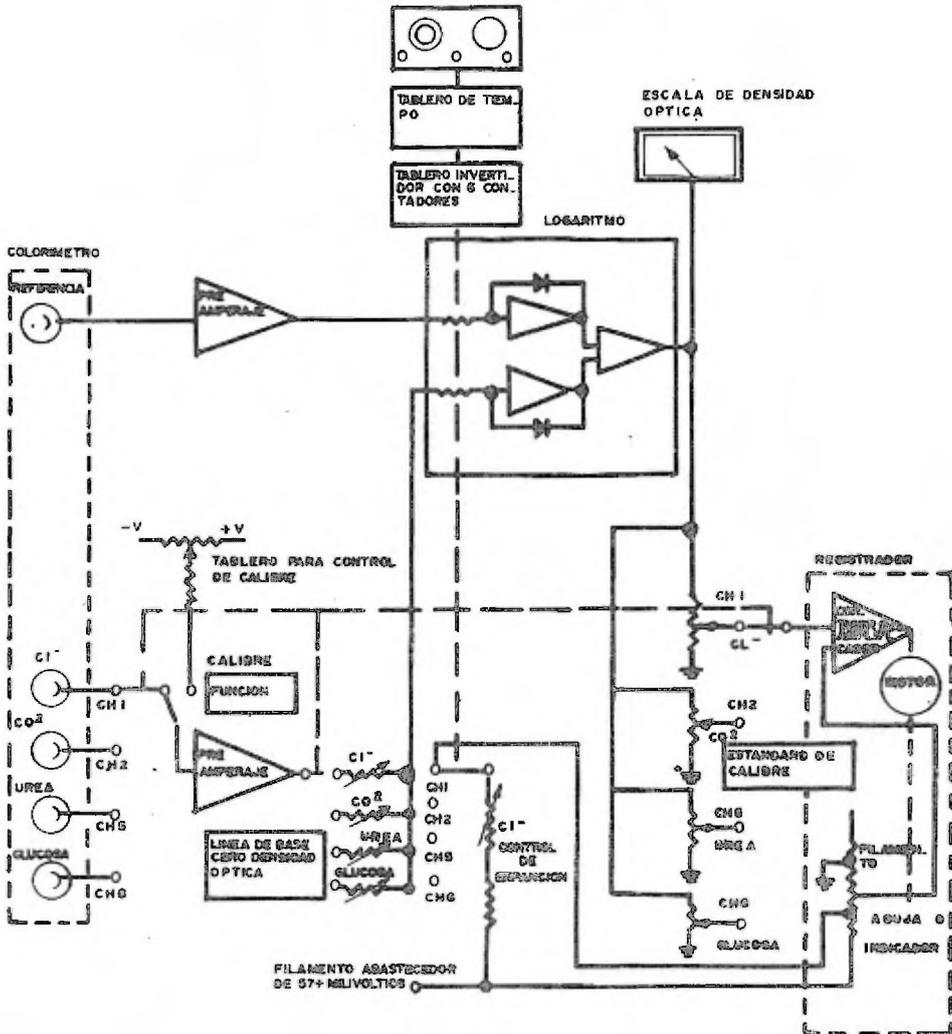


GLUCOSA



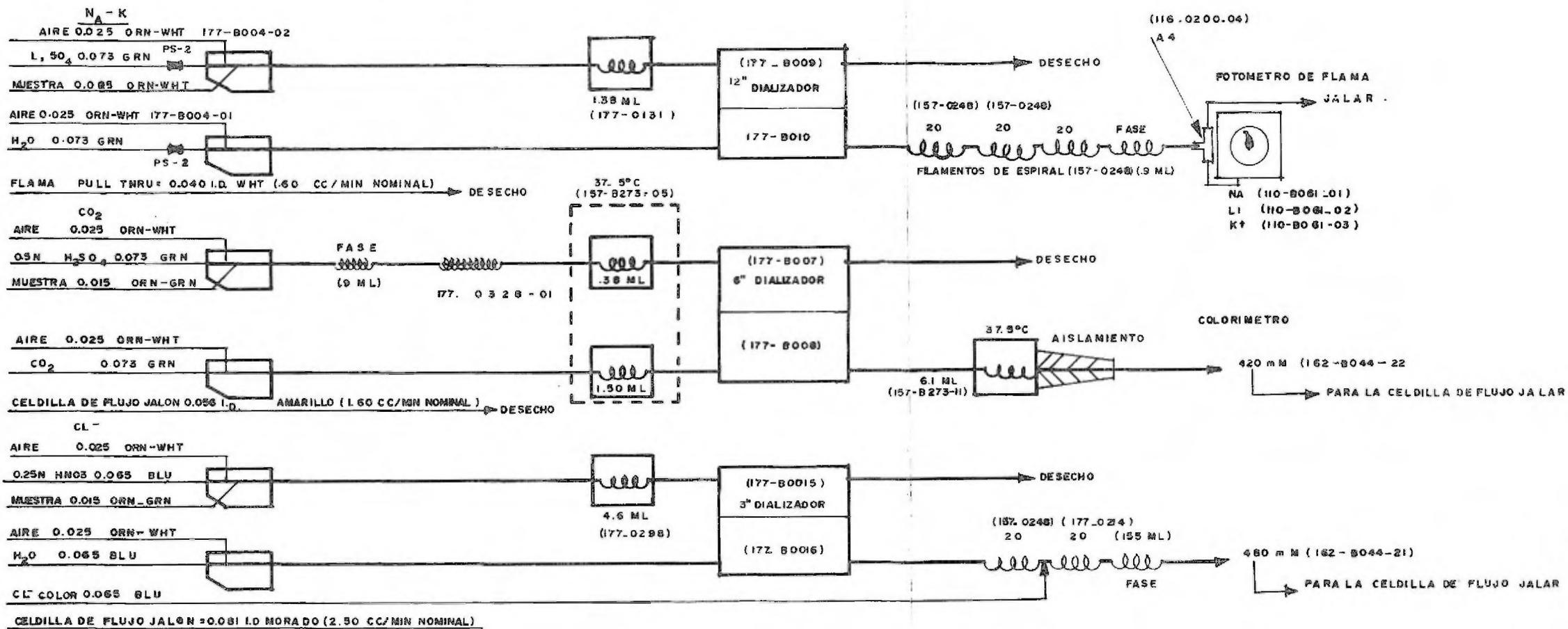
MUESTREADORES DE PULSO 116-B044-02  
 PS-2=ORN-GRN=.015 I.D

# CONTROL DE TIEMPO



A. CANALES DEL COLORIMETRO  
(CH1, CH2, CH5, CH6)

# CLAVES PARA TRABAJAR EL APARATO



3.- M A T E R I A L

3.1.- REACTIVOS :

SOLUCION DE DIACETIL-MONOXIMA. al 2.5 g. % (patrón).

COMPOSICION QUIMICA:

Diacetil-monoxima (2,3-Butanediona-2-oxima):

25.0 G.

Agua destilada, cbp. 1000.0 ml.

PREPARACION:

Disolver el reactivo en 500 ml. de agua, y llevar a aforar con el mismo solvente y filtrar.

Poner la solución filtrada en frasco ambar y anotar la fecha de preparación.

ESTABILIDAD:

Este reactivo es estable durante un período de 12 meses, - cuando se almacena en un recipiente sellado a temperatura ambiente.

SOLUCION DE TIOSEMICARBAZIDA AL 0.5 g % (Patrón):

COMPOSICION QUIMICA:

Tiosemicarbazida; 5.0 g.

Agua destilada cbp 1000.0 ml.

PREPARACION:

Poner aproximadamente 500 ml. de agua destilada en un matraz aforado de 1 Lt., agregar la tiosemicarbazida y agitar con mezclador magnético, hasta que la substancia este completamente disuelta, diluir el volumen con agua destilada.

ESTABILIDAD:

Este reactivo es estable durante un período de 12 meses, - cuando se almacena en un recipiente sellado a temperatura ambiente.

COLOR BUN (DEL METODO) CON BRIJ-35:

COMPOSICION QUIMICA:

Diacetil-monoxima:	2,5 g % (Patrón)	67,0 ml.
Tiosemicarbazida:	0,5 g % (Patrón)	67,0 ml.
Agua destilada, cbp		1000,0 ml.
BRIJ-35, solución al 30%		1,0 ml.

PREPARACION:

Poner aproximadamente 200 ml. de agua destilada en un ma - traz aforado de 1 Lt.

Agregar 67,0 ml. de diacetil-monoxima e igual cantidad de tiosemicarbazida y mezclar.

Diluir al volumen con agua destilada.

Transferir el contenido del matras aforado en una botella- ambar bien sellada.

Agregar 1,0 ml. de BRIJ-35, solución al 30% y mezclar.

ESTABILIDAD:

Este reactivo es estable durante un período de 12 meses -- cuando se almacena en recipiente sellado a temperatura ambiente, - pero si aparece moho en la solución, deberá filtrarse antes de uti- lizarla.

SOLUCION DE CLORURO FERRICO-FOSFORICO. (PATRON):

COMPOSICION QUIMICA:

Cloruro Férrico, hexahidratado ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ )	15.0 G.
Acido fosfórico al 85%	300.0 ml.
Agua destilada, cbp	450.0 ml.

PREPARACION:

Disolver al cloruro férrico en 30.0 ml. de agua destilada y pasar la solución a un cilindro mezclador graduado agregar el ácido fosfórico, poco a poco, arremolinando el cilindro, diluir a 450 ml. con agua destilada y mezclar, pasar el contenido del cilindro a un frasco bien sellado.

ESTABILIDAD:

Este reactivo es estable por un período de 12 meses si se almacena en un recipiente sellado a temperatura ambiente.

SOLUCION DE ACIDO SULFURICO AL 20% (PATRON):

COMPOSICION QUIMICA:

Acido sulfúrico concentrado	200 ml.
Agua destilada, cbp	1000 ml.

PREPARACION:

Diluir 200 ml. de ácido sulfúrico concentrado en 500 ml. de agua destilada, en un matraz aforado de 1 lt., aforar el volumen y vaciar el contenido a un frasco de tapón esmerilado.

ESTABILIDAD:

Este reactivo es estable durante un período de 12 meses si se almacena en un recipiente sellado a temperatura ambiente.

REACTIVO ACIDO BUN:

COMPOSICION QUIMICA:

Acido férrico cloruro-fosfórico	1.0 ml.
Acido sulfúrico al 20%	1000.0 ml.

PREPARACION:

Poner aproximadamente 500 ml. de ácido sulfúrico al 20%, - en un matraz aforado de 1 Lt., agregar 1.0 ml. de ácido férrico - cloruro-fosfórico y mezclar, diluir al volumen con ácido sulfúrico al 20% y mezclar.

ESTABILIDAD:

Este reactivo es estable durante un período de 12 meses - cuando se almacena en un recipiente sellado a temperatura ambiente.

BUN AGUA:

COMPOSICION QUIMICA:

BRIJ-35 al 30%	1.0 ml.
Agua destilada	1000.0 ml.

PREPARACION:

Mezclar el agua con el BRIJ-35 y vaciar a frasco de tapón -

esmerilado.

SOLUCION SALINA:

COMPOSICION QUIMICA Y PREPARACION:

Poner 9 gms. de Na. Cl. en un matraz aforado de 1 Lt., agregar 500 ml. de agua destilada. Agitar el matraz hasta que se disuelva el Na. Cl., diluir al volumen y vaciar a frasco adecuado y etiquetar.

SOLUCION TIPO (DILUYENTE):

COMPOSICION QUIMICA:

Acetato de fenil-mercurico (AFM Castman P4267)	0,20 gms.
Acido sulfúrico Q.P.	1,4 ml.
Agua destilada.	5000,0 ml.

PREPARACION:

Colocar el A.F.M. en un matraz de 250 ml. y agregar 100 ml. de agua destilada, y calentar en Baño maría hasta que el A.F.M. se disuelva. Enfriar y pasar a un matraz aforado de 5 Lt., agregar- 1,4 ml. de ácido sulfúrico Q.P., y mezclar; diluir a 5 Lts. con - - agua destilada.

SOLUCION TIPO DE NITROGENO DE UREA. (BICANAL) :

Patrón de nitrógeno de urea:

10 mg. de nitrógeno de urea/ml.

COMPOSICION QUIMICA:

Urea:	10.7165 gm.
Diluyente para Standard cbp	1000.0 ml.

PREPARACION:

Pesar la urea y pasarla a un metraz aforado de 1 Lt.

Agregar aproximadamente 500 ml. de diluyente para standard agitar hasta que se diluya por completo la urea.

Aforar a volumen con agua bidestilada.

SOLUCION TIPO PARA GRAFICA Y AJUSTE:

No.	Ml. Stock Urea Nitrógeno	Diluyente	Concentración en Mg.% de Nitrógeno de Urea.
1	1	100 ml.	10
2	3	100 ml.	30
3	5	100 ml.	50
4	7	100 ml.	70
5	10	100 ml.	100
6	15	100 ml.	150

EN EL BICANAL.

DETERMINACION DE NITROGENO DE UREA EN EL S. M. A. 6/60:

La muestra de suero se segmenta con burbujas de aire y se diluye con agua destilada.

La dilución pasa a un serpentín en donde se mezcla perfectamente, pasa al dializador.

Una vez dializada la muestra se mezcla con el BUN Color y BUN Acido, y pasa a baño de 90° C (de aceite mineral), de ahí pasa a un serpentín y llega al colorímetro múltiple, donde se lee a — 520 m.u. en la celdilla de flujo.

Se tomaron muestras tomadas al acaso sin selección aparente, excepto que hubiera entre ellos valores altos y normales, y se procedió a comparar 3 métodos.

- 1) Autoanalizador Technicon Bicanal.
- 2) Autoanalizador Technicon S.M.A. 6/60
- 3) Microtécnica manual que proponemos.

MATERIAL:

- a) Tubos de ensaye 13 x 100
- b) Pipetas volumétricas de 0.2 ml.
- c) Pipetas graduadas de 1.5 y 10 ml.
- d) Gradillas.

EQUIPO :

- a) Centrífuga
- b) Fotocolorímetro, Spectrofotometro Coleman Junior II, Modelo 6/20.
- c) Baño María.

EQUIPO AUTOANALIZADOR TECHNICON:

- a) Bicanal.
- b) S.M.A. 6/60.

REACTIVOS:

- a) Acido sulfúrico (N/12 ó 0.0833N)
- b) Tungstato de sodio 10%
- c) Agua destilada.
- d) BUN Acido (Reactivo de autoanalizadores)
- e) BUN Color (Reactivo de autoanalizador).

3.2.- MICROTECNICA PROPUESTA.

Son conocer aún esta proporción de reactivos en el aparato se propusieron las siguientes concentraciones. (Tabla 1)

Se obtuvieron gráficas lineales que siguieron la Ley de — Lambert y Beer, y fue la # 8 la escogida para ser utilizada, ya que era la que más se acercaba a la proporción real en el aparato de — dichos reactivos.

Para comprobar ésto se hizo una mezcla de sueros de dife-  
rentes valores, se desproteinizó con Folin Wu y se corrieron las —  
10 técnicas con el mismo filtrado, obteniéndose la curva mostrada  
en la Tablé No. II.

Se hizo algo semejante para determinar el tiempo de ebu-  
llición ideal, Tabla # III, así como para la estabilidad de la re-  
acción, Tabla # IV, teniendo en cuenta que los dos autoanalizado —  
res se utilizaba filtro S20 m.u., se llevaron los problemas a sacar  
se un espectrograma, comprobando también que el filtro apropiado —  
era de S20 -S25 m.u., Tabla # V, con estos datos se propuso la —  
siguiente microtécnica.

Utilizando suero, plasma o sangre completa desproteniniza-  
da con Folin Wu.

0.2 ml. de filtrado libre de proteínas.

0.8 ml. de BUN Color,

1.20 ml. de BUN Acido,

Meter a baño maría a ebullición por 20 min. y enfriar; agre-  
gar 2.8 cc. de agua de calada, leer contra blanco de reactivo a S20  
m.u.

STANDARD O REFERENCIA:

La proporción de los standeres en el aparato autoanalizador

Bicanal no puede utilizarse en esta técnica, pues es específica - para dichos aparatos.

Por otra parte el S.M.A. 6/60 utiliza sueros de referencia (Labtrol, Varsatol, etc.,) a fin de poder utilizar en cualquier momento esta microtécnica procedemos a utilizar un suero conocido para obtener una curva y comparar nuestros valores. Tabla # VI.

Con la técnica anteriormente dicha se hicieron las siguientes determinaciones:

a) Ciento once casos de personas que se encontraban internadas en el Hospital General "Lic. Adolfo López Mateos", dependiente del I.S.S.S.T.E., a las cuales se les determinó la cantidad de urea presente, no importando si fuesen altos o bajos los valores.

Para sacar medias aritméticas, calculando así los valores normales de la microtécnica, después con personas con valores normales, se determinó si la microtécnica era aceptada o no mediante pruebas estadísticas.

Siendo un análisis químico completo, no pasando por alto los errores debido a ; manipulaciones, reactivos, instrumentación, Etc.,

#### 4.- M E T O D O S :

— 4.1.- CONCENTRACION DEL REACTIVO.

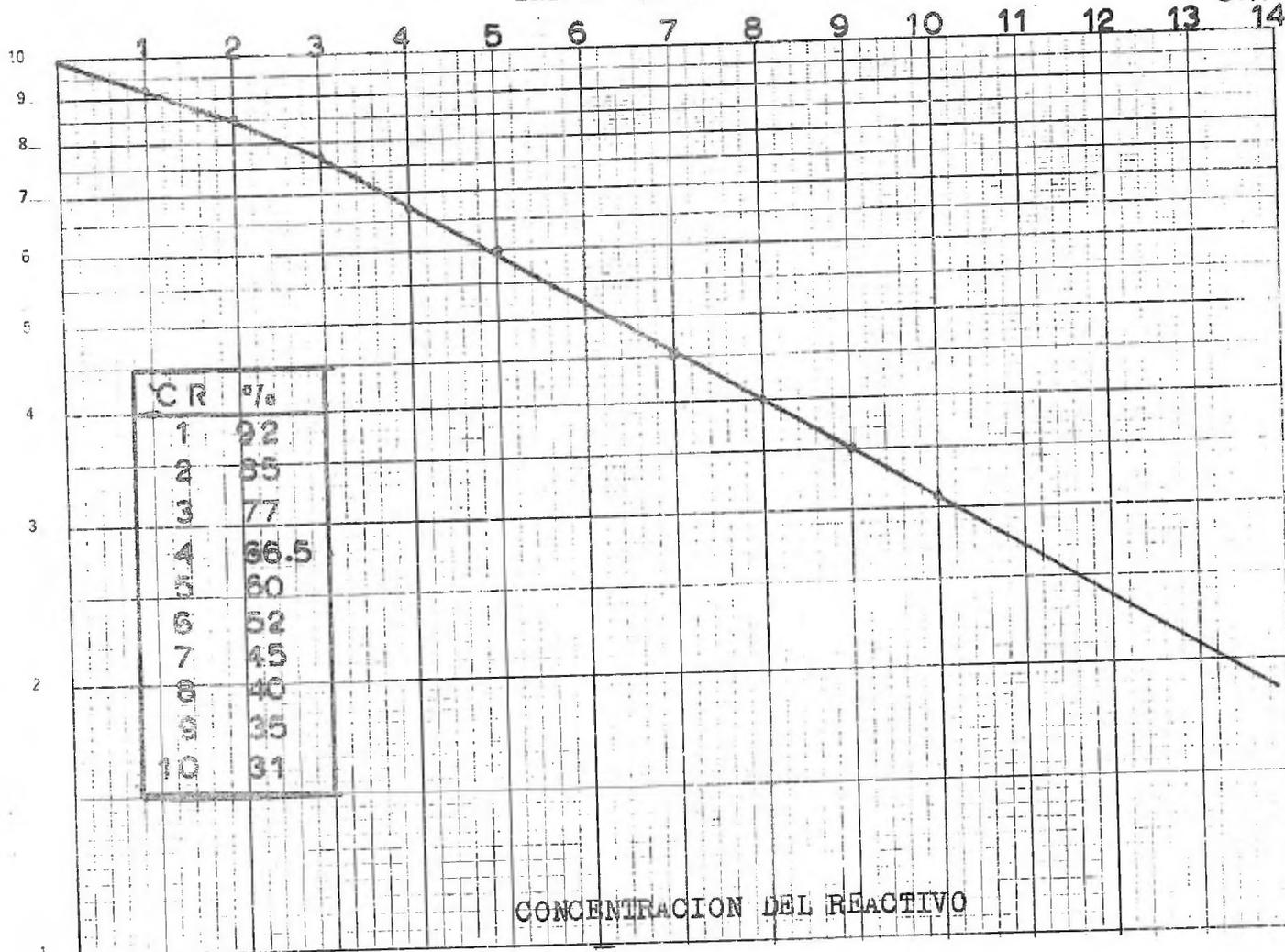
TABLA I

CONCENTRACION DEL REACTIVO:

	FILTRADO	BUN COLOR	BUN ACIDO	AGUA
1	0.2 ml.	0.1 ml.	0.15 ml.	4.65 ml.
2	0.2 "	0.2 "	0.30 "	4.30 "
3	0.2 "	0.3 "	0.45 "	4.05 "
4	0.2 "	0.4 "	0.60 "	3.80 "
5	0.2 "	0.5 "	0.75 "	3.55 "
6	0.2 "	0.6 "	0.90 "	3.30 "
7	0.2 "	0.7 "	1.05 "	3.05 "
8	0.2 "	0.8 "	1.20 "	2.80 "
9	0.2 "	0.9 "	1.35 "	2.55 "
10	0.2 "	1.0 "	1.50 "	2.30 "

TABLA No. 2

C.R.



CONCENTRACION DEL REACTIVO

4,2.- TIEMPO DE EBULLICION.

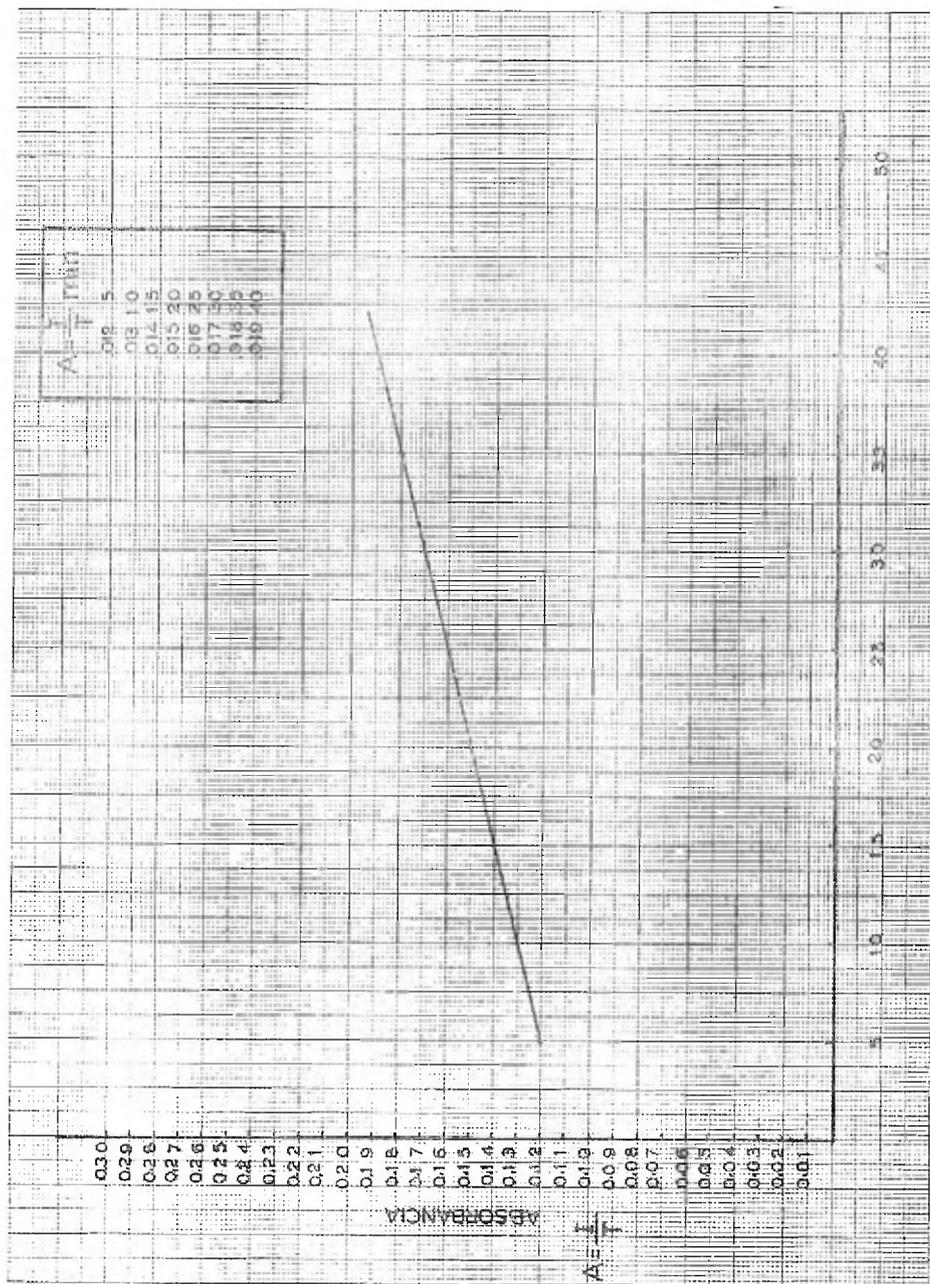


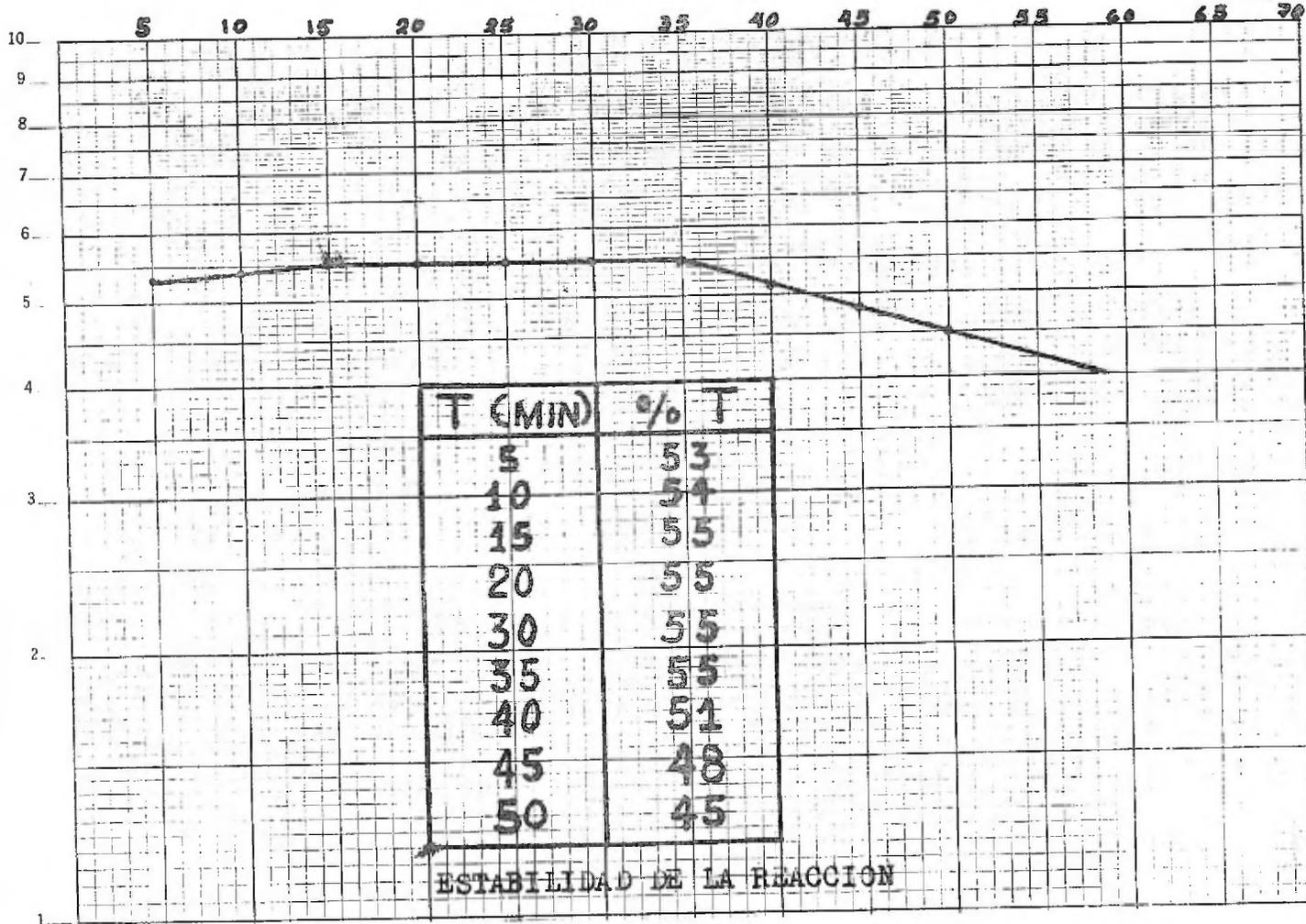
TABLA No. 3

TIEMPO DE EBULLICION

4.3.- ESTABILIDAD DE LA REACCION.

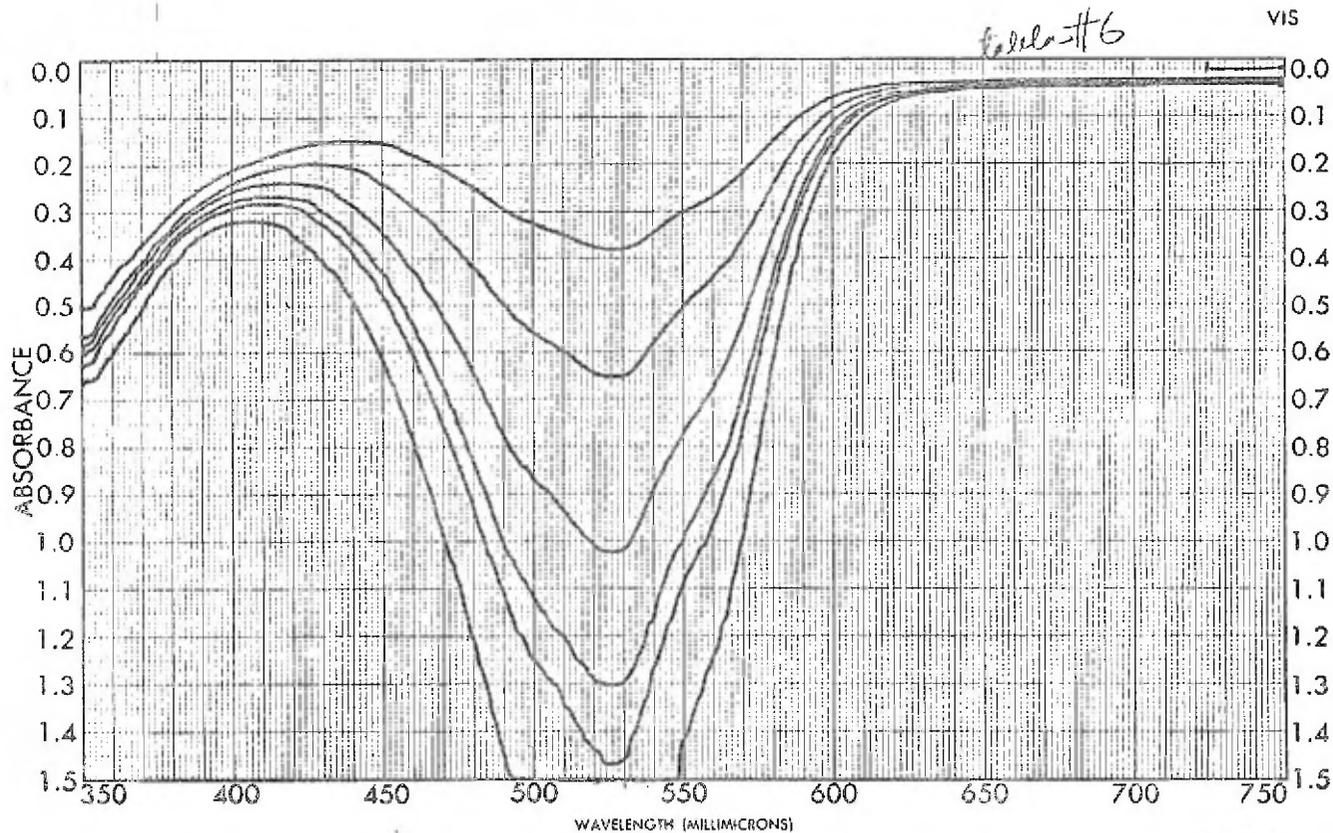
TABLA No. 4

MIN



ESTABILIDAD DE LA REACCION

4.4.- ESPECTROGRAMA.

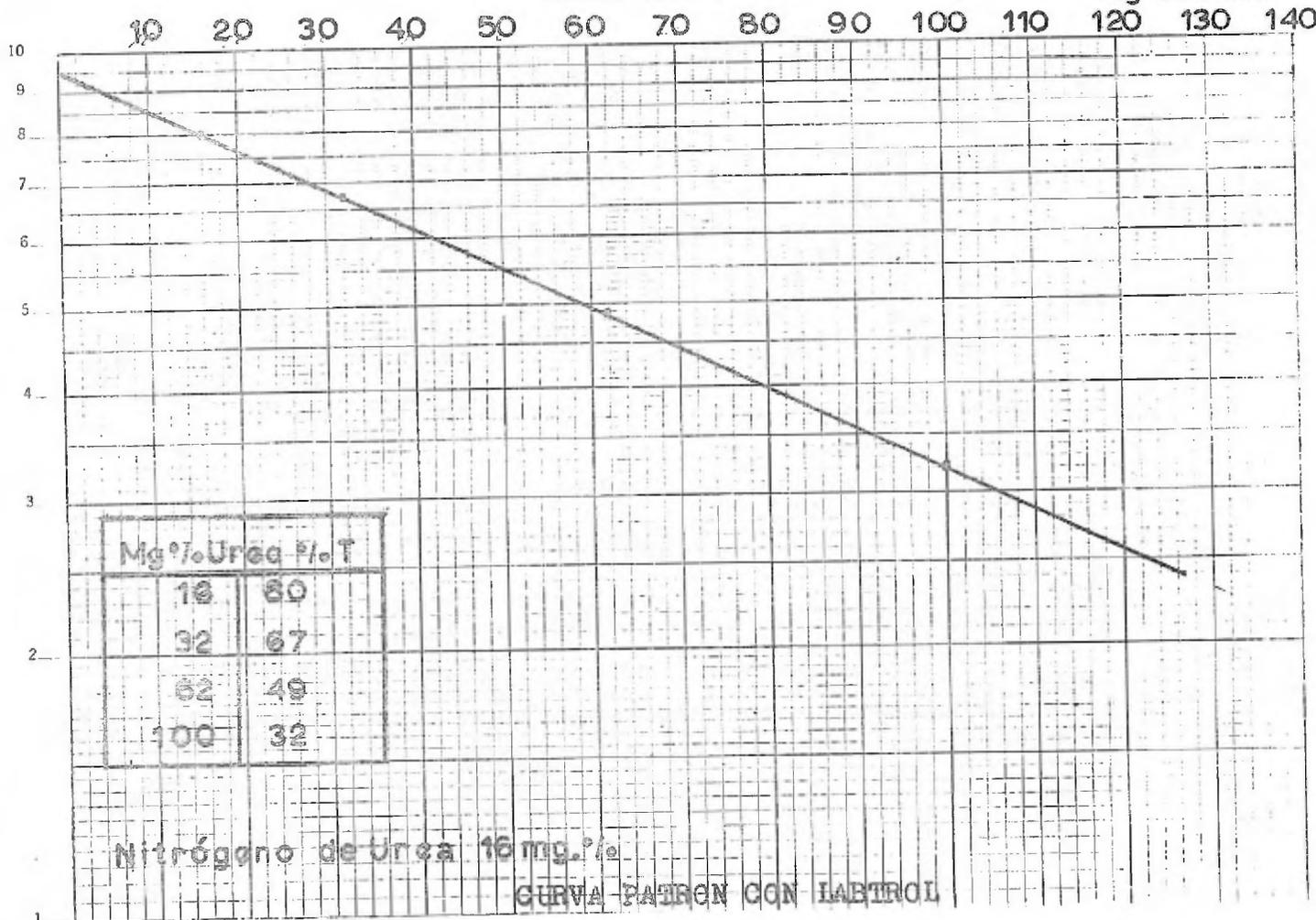


SAMPLE _____	CURVE NO. <u>1486-1491</u>	SCAN SPEED <u>100</u>	OPERATOR <u>[Signature]</u>
_____	CONC. _____	SLIT <u>25</u>	DATE <u>10/14/72</u>
ORIGIN _____	CELL PATH <u>1 cm</u>	REMARKS _____	
SOLVENT <u>H<sub>2</sub>O</u>	REFERENCE <u>H<sub>2</sub>O</u>		

4.5.- CURVA PATRON (MICROTECNICA)

TABLA No. 6

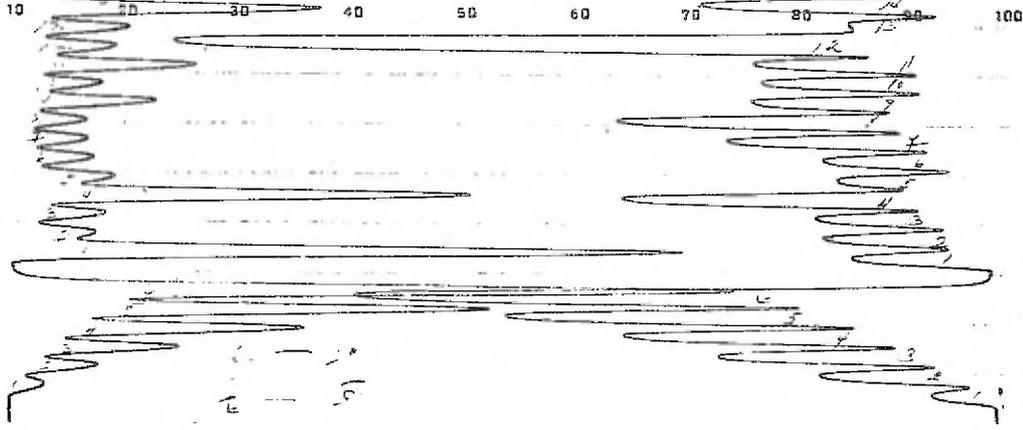
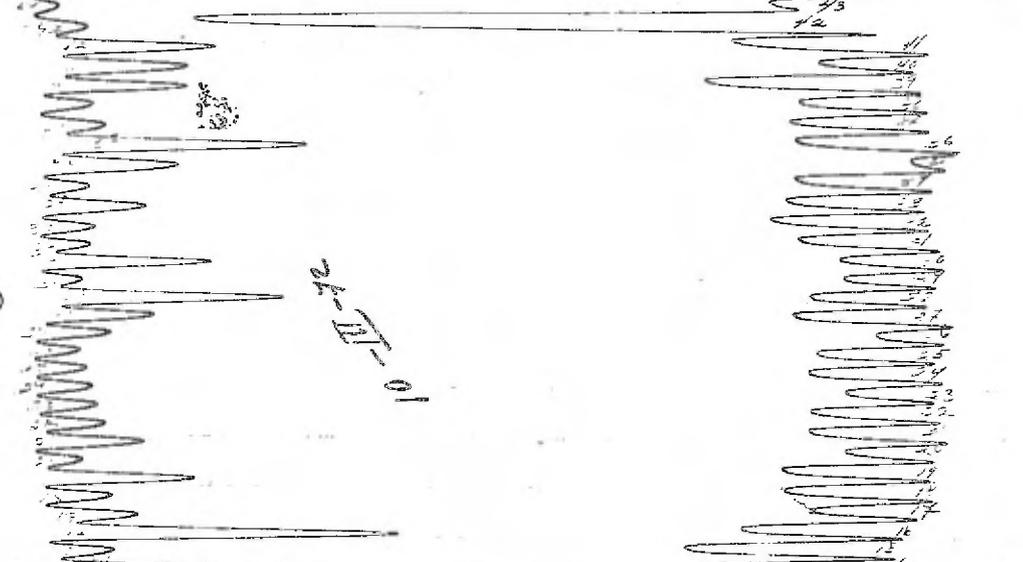
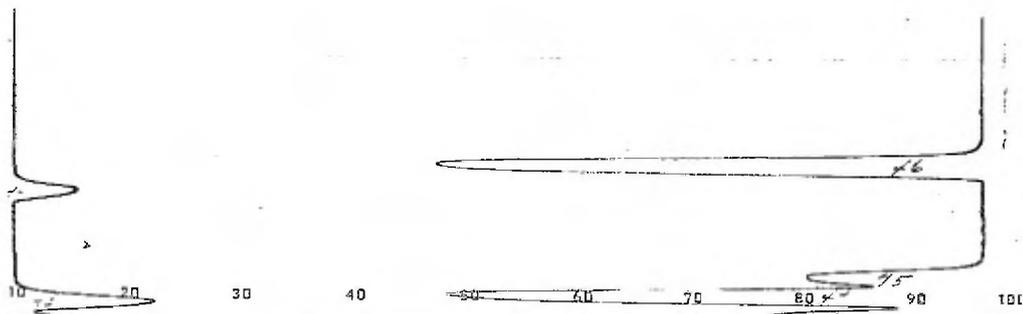
Mg% Urea



Nitrógeno de Urea 16 mg. %

CURVA PATRON CON LABTRON

4.6.- CURVA PATRON (AUTOANALIZADOR)



71

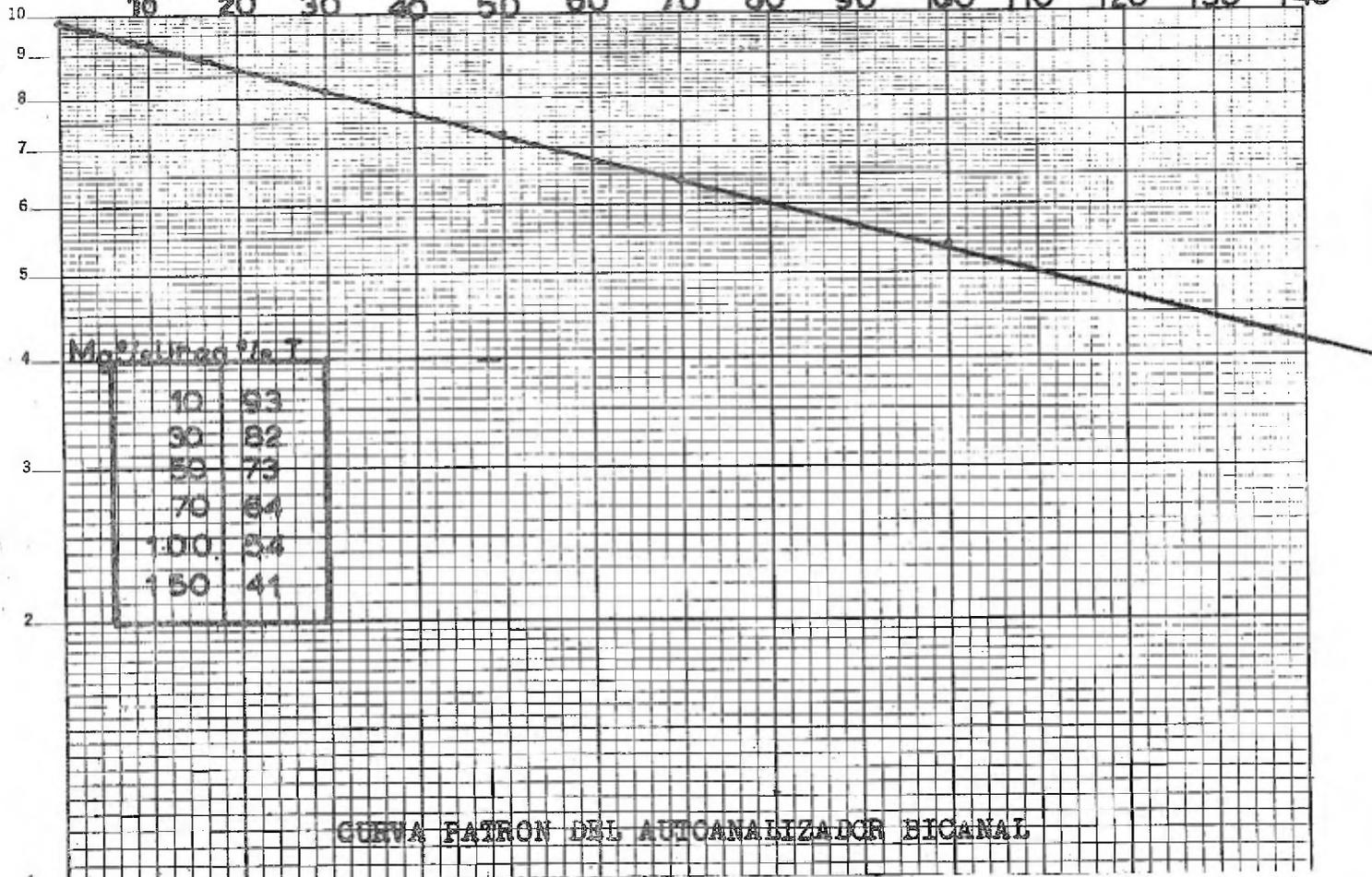
10-III-72

10-III-72

TABLA No. 7

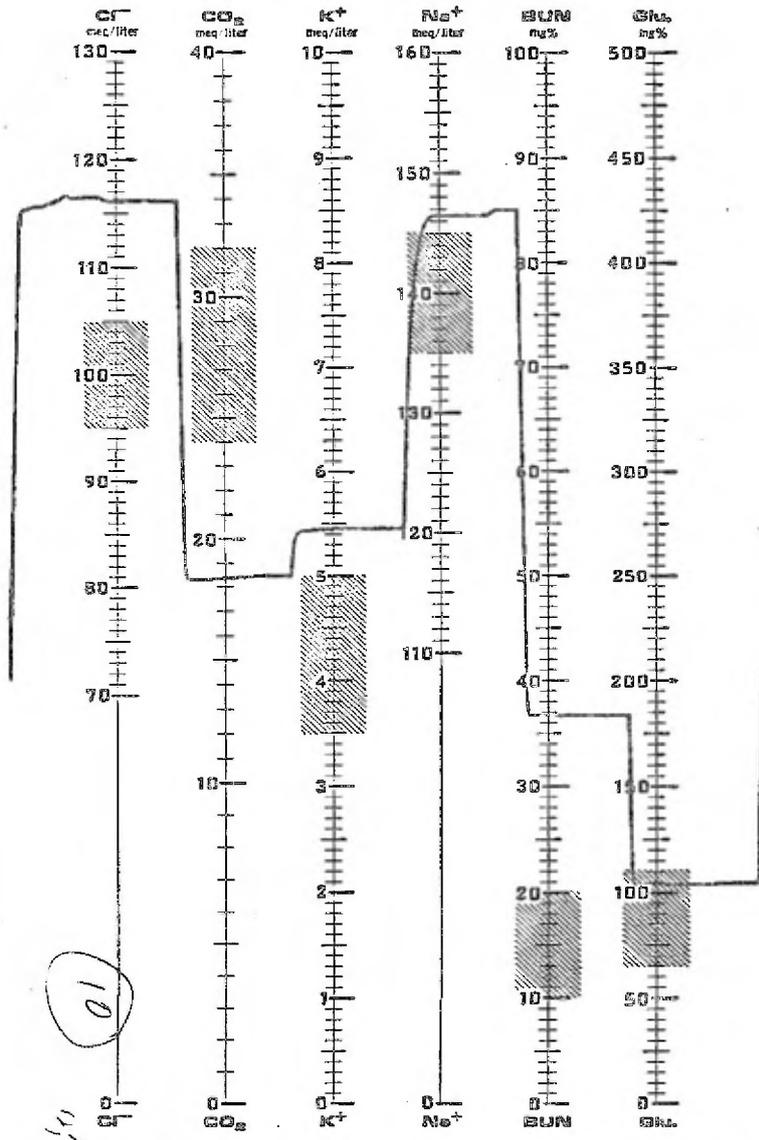
Mg. % de Urea

Tabla 1



CURVA PATRON DEL AUTOCANALIZADOR BICANAL

**SMA** 6/60



Patient's Name \_\_\_\_\_

No. \_\_\_\_\_ Am. \_\_\_\_\_ Date \_\_\_\_\_

- 5.- RESULTADOS \*Y\* DISCUSION :

-5.1.- PARTE ESTADISTICA.

## VALORES :

NUMERO	BICANAL	MICROTECNICA Mg % de Urea	DIFERENCIA	
	AUTGANALIZADOR Mg % de Urea		Mg.	%
1	14	15	+1	6.7
2	14	15	+1	6.7
3	15	16	+1	6.7
4	15	16	+1	6.3
5	15	16	+1	6.3
6	16	17	+1	5.9
7	16	17	+1	5.9
8	16	17	+1	5.9
9	16	17	+1	5.9
10	16	17	+1	5.9
11	16	17	+1	5.9
12	16	17	+1	5.9
13	16	17	+1	5.9
14	16	18	+1	11.2
15	17	18	+1	5.6
16	18	19	+1	5.3
17	18	20	+1	10.0
18	19	20	+1	5.0
19	19	20	+1	5.0
20	20	21	+1	4.8
21	20	21	+1	4.8
22	20	21	+1	4.8
23	20	21	+1	4.8
24	20	21	+1	4.8
25	20	21	+1	4.8

## VALORES :

NUMERO	BICANAL	MICROTECNICA	DIFERENCIA	
	AUTOANALIZADOR Mg% de Urea	Mg% de Urea	Mg.	%
26	20	22	+ 2	9.1
27	21	22	+ 1	4.5
28	21	22	+ 1	4.5
29	21	22	+ 1	4.5
30	22	23	+ 1	4.4
31	22	23	+ 1	4.4
32	22	23	+ 1	4.4
33	22	23	+ 1	4.4
34	22	23	+ 1	4.4
35	23	24	+ 1	3.8
36	23	24	+ 1	3.8
37	23	24	+ 1	3.8
38	23	24	+ 1	3.8
39	24	25	+ 1	3.6
40	24	25	+ 1	3.6
41	25	26	+ 1	3.5
42	25	26	+ 1	3.5
43	25	26	+ 1	3.5
44	25	26	+ 1	3.5
45	26	27	+ 1	3.3

## VALORES :

NUMERO	BICANAL	MICROTECNICA	DIFERENCIA	
	AUTOANALIZADOR Mg % de Urea		Mg.	%
46	26	27	+1	3.3
47	26	27	+1	3.3
48	26	27	+1	3.3
49	26	27	+1	3.3
50	27	28	+1	3.2
51	27	28	+1	3.2
52	27	28	+1	3.2
53	27	28	+1	3.2
54	27	28	+1	3.2
55	27	28	+1	3.2
56	27	28	+1	3.2
57	27	28	+1	3.2
58	27	28	+1	3.2
59	27	28	+1	3.2
60	27	28	+1	3.2
61	27	28	+1	3.2
62	28	29	+1	3.1
63	28	29	+1	3.1
64	28	29	+1	3.1
65	28	29	+1	3.1
66	28	29	+1	3.1
67	28	29	+1	3.1
68	30	31	+1	3.0
69	30	31	+1	3.0
70	30	31	+1	3.0
71	30	31	+1	3.0

## VALORES :

NUMERO	BICANAL AUTOANALIZADOR Mg. % de Urea	MICROTECNICA Mg. % de Urea	DIFERENCIA	
			Mg.	%*
72	30	31	+ 1	3.0
73	30	31	+ 1	3.0
74	30	31	+ 1	3.0
75	31	32	+ 1	2.8
76	32	33	+ 1	2.8
77	32	33	+ 1	2.8
78	32	33	+ 1	2.8
79	32	33	+ 1	2.8
80	32	33	+ 1	2.8
81	32	33	+ 1	2.8
82	32	33	+ 1	2.8
83	32	33	+ 1	2.8
84	33	34	+ 1	2.5
85	33	34	+ 1	2.5
86	33	34	+ 1	2.5
87	33	34	+ 1	2.5
88	35	36	+ 1	2.5
89	35	36	+ 1	2.5
90	35	36	+ 1	2.5
91	36	37	+ 1	2.4
92	36	37	+ 1	2.4
93	39	40	+ 1	2.3
94	39	40	+ 1	2.3
95	40	41	+ 1	2.2
96	41	42	+ 1	2.1

VALORES :

NUMERO	BICANAL AUTOANALIZADDR Mg. % de Urea	MICROTECNICA Mg. % de urea	DIFERENCIA	
			Mg.	%
97	43	44	+ 1	2.0
98	43	44	+ 1	2.0
99	43	44	+ 1	2.0
100	46	47	+ 1	1.9
101	47	48	+ 1	1.9
102	47	48	+ 1	1.9
103	49	50	+ 1	1.8
104	52	53	+ 1	1.7
105	54	55	+ 1	1.7
106	55	56	+ 1	1.1
107	55	56	+ 1	1.1
108	61	62	+ 1	1.1
109	91	92	+ 1	1.0
110	91	92	+ 1	1.0
111	116	117	+ 1	0.9

108 Casos con una diferencia de 1 Mg.

3 Casos con una diferencia de 2 Mg.

## DIFERENCIA PORCENTUAL

El 14.4 % de los casos con 4.6 % de diferencia.

El 12.6 % de los casos con 4.3 % de diferencia.

El 32.4 % de los casos con 3.9 % de diferencia.

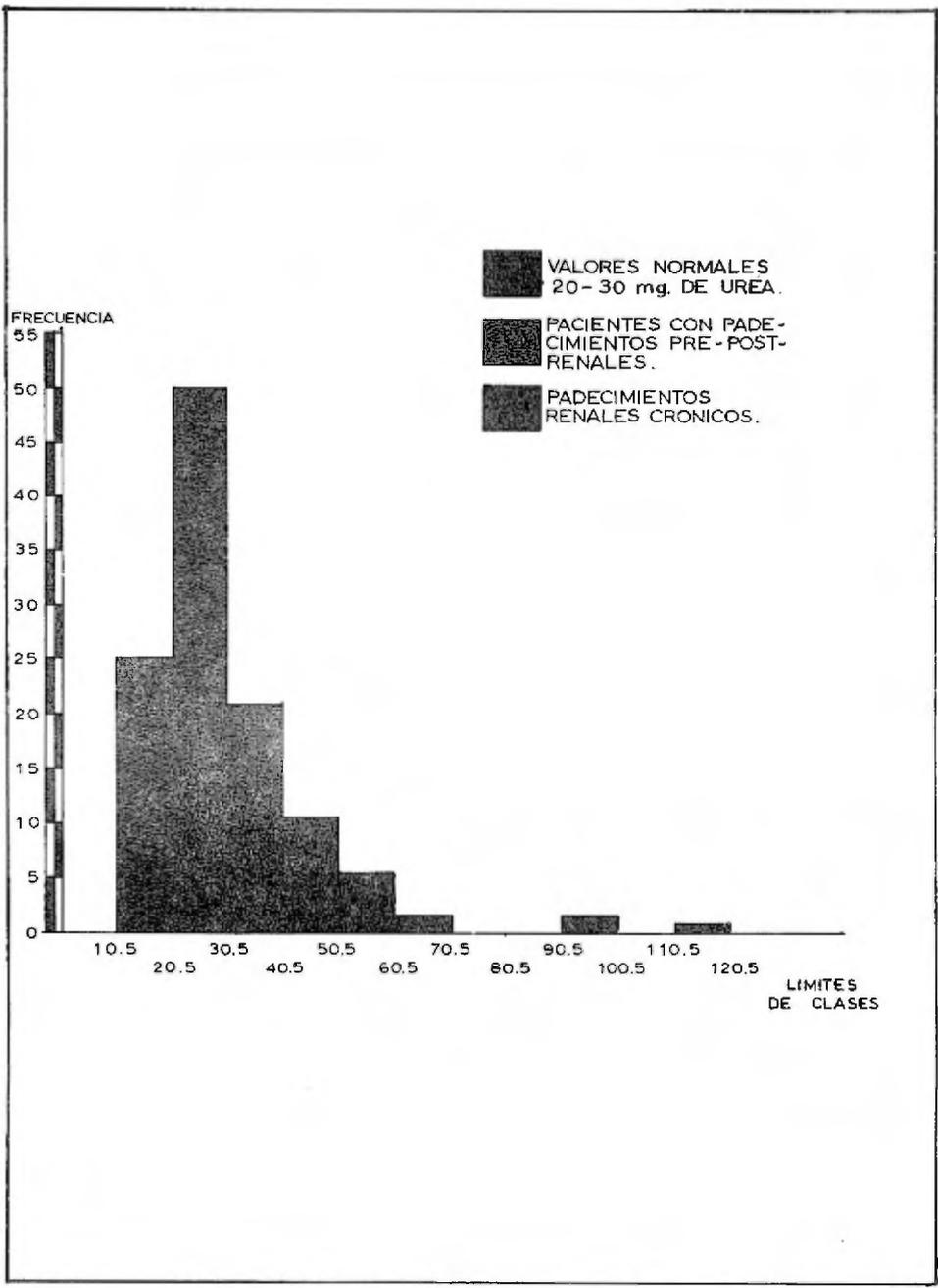
El 5.4 % de los casos con 3.8 % de diferencia.

El 16.2 % de los casos con 3.1 % de diferencia.

El 18.0 % de los casos con 2.7 % de diferencia.

HISTOGRAMA = Para conocer los valores normales. DE nuestro trabajo tanto del método manual como del automático ya que varía 1 Mg.

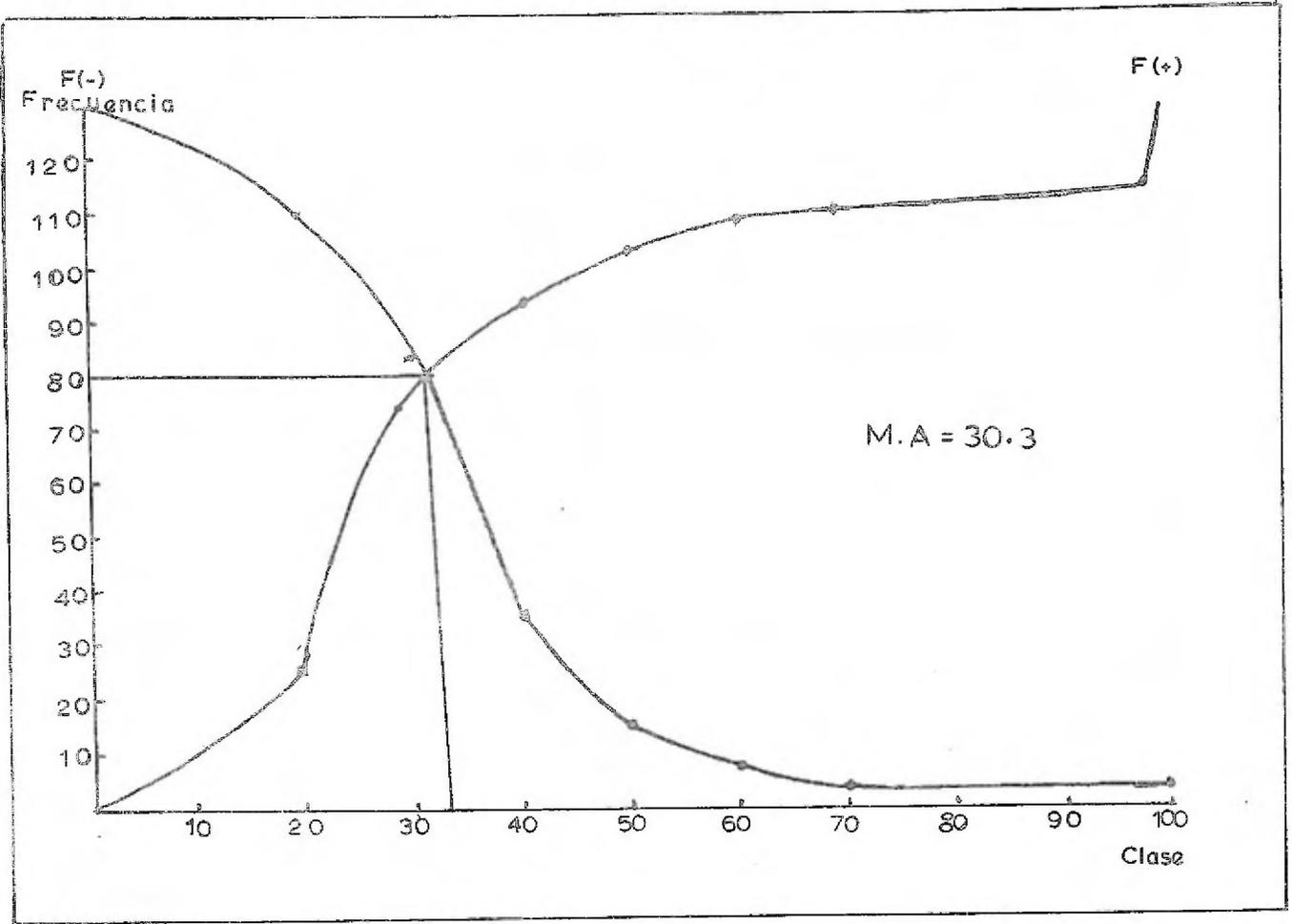
CLASE	FRECUENCIA	LIMITE DE CLASE
0 - 10	0	0 - 10,5
11 - 20	26	10,5 - 20,5
21 - 30	48	20,5 - 30,5
31 - 40	21	30,5 - 40,5
41 - 50	8	40,5 - 50,5
51 - 60	4	50,5 - 60,5
61 - 70	1	60,5 - 70,5
71 - 80	0	70,5 - 80,5
81 - 90	0	80,5 - 90,5
91 - 100	2	90,5 - 100,5
101 - 110	0	100,5 - 110,5
111 - 120	1	110,5 - 120,5



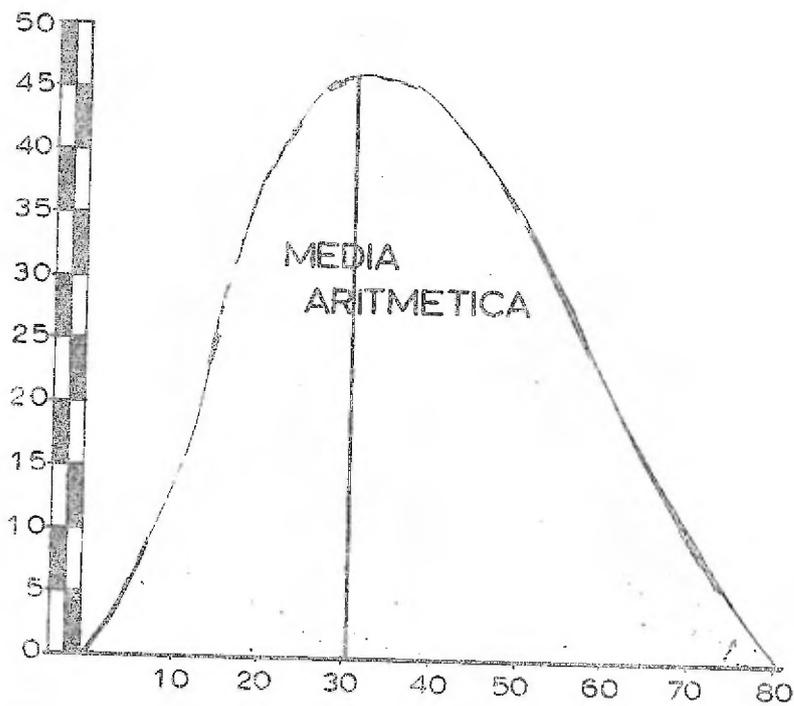
EL POLIGONO DE FRECUENCIA:

Es otro medio por el cual se puede sacar los valores normales, al igual que en el Histograma, o sea una media aritmética y el porcentaje de las personas normales.

CLASE	FRECUENCIA	F (+)	F (-)	% (+)	% (-)
0 - 10	0	0	0	0	0
10 - 20	26	26	111	23.4	100
20 - 30	48	74	85	66.6	74.7
30 - 40	21	95	37	85.5	33.3
40 - 50	8	103	16	92.7	14.4
50 - 60	4	107	8	96.3	7.2
60 - 70	1	108	4	97.3	3.5
70 - 80	0	0	0	0.0	0.0
80 - 90	0	0	0	0.0	0.0
90 -100	2	110	3	99.0	2.6
100 -110	0	0	0	0.0	0.0
110 -120	1	111	1	100.0	0.90



frecuencia



CALCULO DE LA MEDIA ARITMETICA EN ESTADÍSTICA:

La media aritmética es una medida de tendencia central, siendo el valor resultante de sumar algebraicamente los valores de una serie de observaciones y dividirlo entre el número total de observaciones.

---

CLASE	FRECUENCIA	CENTRO DE CLASE	F. X.
0 - 10	0	5	5.0
11 - 20	26	15.5	403.0
21 - 30	48	25.5	1224.0
31 - 40	21	35.5	745.0
41 - 50	8	45.5	364.0
51 - 60	4	55.5	222.0
61 - 70	1	65.5	65.5
71 - 80	0	75.5	0.0
81 - 90	0	85.5	0.0
91 -100	2	95.5	191.0
101 -110	0	110.0	0.0
111 -120	1	115.5	115.5

---

$$\Sigma F = 111$$

$$\Sigma FX = 3335.5$$

$$X = \frac{\Sigma FX}{\Sigma F} = \frac{3335.5}{111} = 30.4$$

La media Aritmética de la Microtécnica es : 30.4, y del Método Automático.

---

Para calcular la media aritmética, la desviación standard, la varianza, coeficiente de variación error, Prueba de Studet, etc. tendrá que trabajarse por separado los valores de la técnica manual y automática.

Empleandose las siguientes fórmulas:

MEDIA ARITMETICA:

$$M = \frac{\sum d}{n}$$

DESVIACION STANDARD:

$$\sigma = \frac{\sqrt{\sum d^2}}{n - 1}$$

VARIANZA :

$$V = \sigma^2 = \frac{\sum d^2}{n - 1}$$

ERROR STANDAR:

$$e = \sqrt{\frac{V}{n}}$$

PRUEBA F :

$$F = \frac{V_1}{V_2}$$

FUNCION STUDENT : (+)

$$T = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{e_1^2 + e_2^2}}$$

COEFICIENTE DE VARIACION:

$$C_v = \frac{\sigma \times 100}{M}$$

VALOR REAL :

$$V.R. = M \pm \sigma$$

DONDE

d = Valor obtenido en la determinación.

d = Suma de los valores obtenidos en la serie de determinaciones.

n = Al número de determinaciones.

d<sup>2</sup> = Suma de los cuadrados de los valores obtenidos en la serie de determinaciones.

V<sub>1</sub> = Varianza mayor.

V<sub>2</sub> = Varianza menor.

M<sub>1</sub> = Media Mayor

M<sub>2</sub> = Media menor

C<sub>1</sub><sup>2</sup> = Error Mayor.

C<sub>2</sub><sup>2</sup> = Error menor.

TABLA No. II

NUMERO	AUTOANALIZADOR S.M.A. 6/60 Mg. % de Urea	MICROTECNICA Mg. % de Urea	DIFERENCIA Mg°
1	21	22	+ 1
2	21	22	+ 1
3	21	22	+ 1
4	22	23	+ 1
5	22	23	+ 1
6	22	23	+ 1
7	22	23	+ 1
8	22	23	+ 1
9	23	24	+ 1
10	23	24	+ 1
11	23	24	+ 1
12	23	24	+ 1
13	24	25	+ 1
14	24	25	+ 1
15	25	26	+ 1
16	25	26	+ 1
17	25	26	+ 1
18	25	26	+ 1
19	26	27	+ 1
20	26	27	+ 1
21	26	27	+ 1
22	26	27	+ 1
23	26	27	+ 1
24	27	28	+ 1
25	27	28	+ 1
26	27	28	+ 1
27	27	28	+ 1
28	27	28	+ 1

NUMERO	AUTOANALIZADOR S.M.A. 6/60 Mg. % de Urea	MICROTECNICA Mg. % de Urea	DIFERENCIA Mg.
29	27	28	+ 1
30	27	28	+ 1
31	27	28	+ 1
32	27	28	+ 1
33	27	28	+ 1
34	27	28	+ 1
35	27	28	+ 1
36	28	29	+ 1
37	28	29	+ 1
38	28	29	+ 1
39	28	29	+ 1
40	28	29	+ 1
41	28	29	+ 1
42	30	31	+ 1
43	30	31	+ 1
44	30	31	+ 1
45	30	31	+ 1
46	30	31	+ 1
47	30	31	+ 1
48	30	31	+ 1

METODO AUTOMATICO

$$M = \frac{\sum d}{n} = \frac{1246}{48} = 25.9$$

$$V = \frac{\sum d^2}{n-1} = \frac{350.88}{47} = 7.46$$

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum d^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{350.88}{47}} = 2.73$$

$$\text{Error} = \frac{\sigma}{\sqrt{n}} = \frac{2.73}{\sqrt{48}} = \frac{2.73}{21.9} = .124$$

$$\text{C.V.} = \frac{\sigma \times 100}{M} = \frac{2.73 \times 100}{25.9} = 10.5$$

$$\text{V.R.} = 25.9 \pm 2.73$$

$$2\sigma = 5.46$$

METODO MANUAL

$$\frac{1293}{48} = 26.9$$

$$\frac{350.88}{47} = 7.46$$

$$\sqrt{\frac{350.88}{47}} = 2.73$$

$$.124$$

$$\frac{2.73 \times 100}{26.9} = 10.1$$

$$26.9 \pm 2.73$$

$$5.46$$

PRUEBA DE 'T'

$$1). \_ H_0 \rightarrow \frac{\mu}{x_1} = \frac{x_2}{x_2}$$

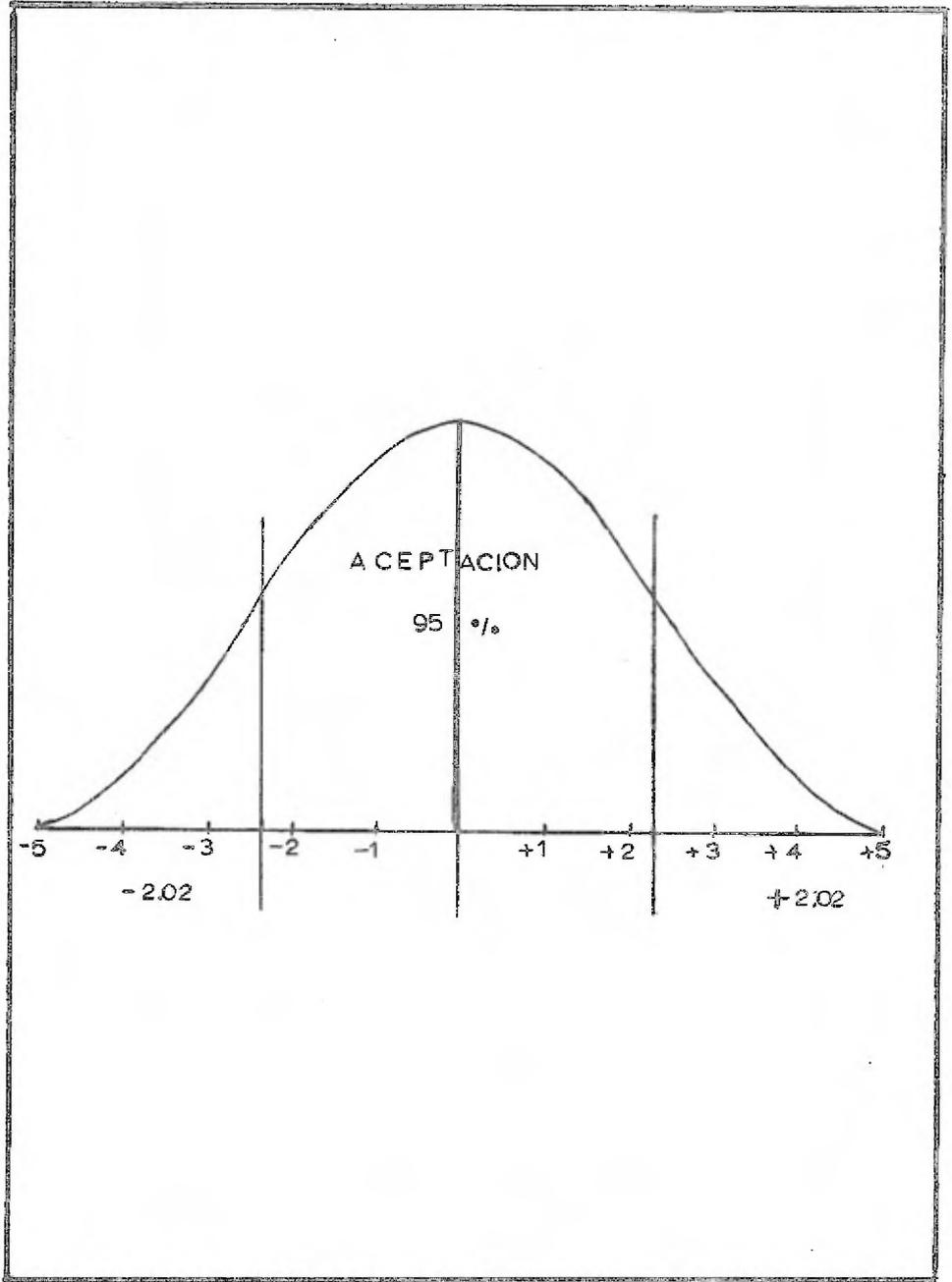
$$2). \_ \alpha = 0.05 \quad n = 48 - 1 = 47 \quad \text{GRADOS DE LIBERTAD}$$

$$T_{1 - 1/2 \alpha} = T_{.975}$$

$$T_{1/2 \alpha} = T_{.025}$$

$$T_{1 - 1/2 \alpha} = T_{.975} = 2.02$$

$$T_{1/2 \alpha} = T_{.025} = -2.02$$



3)

$$T = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{e_1^2 + e_2^2}}$$

$$M_1 = \frac{1246}{48} = 25.9$$

$$M_2 = \frac{1293}{48} = 26.9$$

$$T = \frac{\sqrt{\sum (X_1 - \bar{X}_1)^2 + \sum (X_2 - \bar{X}_2)^2}}{n_1 + n_2 - 2}$$

$$T = \frac{\sqrt{350.88 + 350.88}}{48 + 48 - 2}$$

$$T = \frac{\sqrt{701.76}}{94} = 2.73$$

Por lo tanto esta prueba es significativa para saber si se aprueba o se rechaza la microtécnica en base de varios cálculos estadísticos.

$$T = \frac{26.9 - 25.9}{2.73} \sqrt{\frac{48 \times 48}{48 + 48}} = \frac{1.0}{2.73} \times 4.8$$

$$T = .39 \times 4.8 = 1.872$$

POR LO TANTO T PRACTICA CUMPLE LOS REQUISITOS Y ES ACEPTADA NUESTRA HIPOTESIS YA QUE

$$+ 2.02 < T_p > -2.02$$

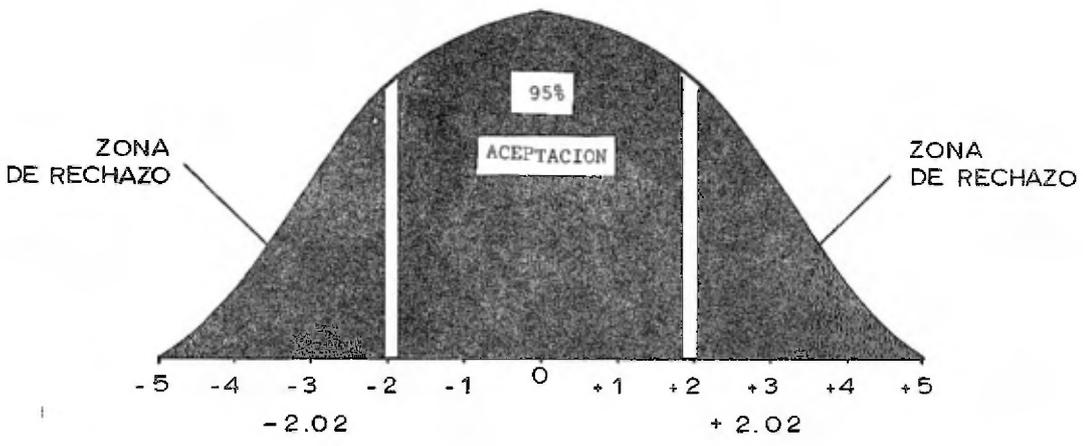
O SEA

$$+ 2.02 < 1.87 > -2.02$$

EL VALOR CAE EN EL AREA DE ACEPTACION; SIENDO VALIDA NUESTRA HIPOTESIS.

RESULTADO:

± 1.87 por lo tanto es aceptada nuestra hipótesis.



## RESUMEN DE LOS DATOS ESTADISTICOS

METODOS	MANUAL	AUTOMATICO
RANGO (R)	20 - 30	21 - 31
MEDIA (M)	25.9	25.9
DESVIACION ( $\sigma$ )	$\pm 2.73$	$\pm 2.73$
ESTANDARD ( $2\sigma$ )	$\pm 5.46$	$\pm 5.46$
ERROR (e)	0.124	0.124
COEFICIENTE DE VARIACION (Cv)	10.1	10.5
VARIANZA (V)	7.46	7.46
VALOR REAL (V.R.)	$26.9 \pm 2.73$	$25.9 \pm 2.73$
PRUEBA T (T)	Experimental 1.8	

$$P < 0.05$$

Homogeneo.

Experimental 1.87

$$P > 0.05$$

Significativo.

DE DONDE:

$$\approx 0.05 = \pm 2.02$$

POR LO TANTO:

$$+ 2.02 < 1.87 > -2.02$$

VALORES NORMALES OBTENIDOS CON PERSONAS CLINICAMENTE SANAS.

METODO MANUAL Y AUTOMATICO = 20-30.4 mg. 100 ml.

(LAS CIFRAS EXPRESAN CONCENTRACION DE UREA EN SANGRE).

6.- C O N C L U S I O N E S

## DISCUSION DEL METODO:

Se obtuvo una microtécnica manual para la determinación de urea a partir de la técnica del autoanalizador, utilizando los mismos reactivos que se usan en el Bicanal y en el S.M.A. 6/60.

En ambos equipos se obtiene el nitrógeno de urea, pero en el Bicanal se usan los tipos ya en proporción ideal para determinar urea.

Se utilizó suero ó plasma, y la técnica es útil desproteinizando, centrifugando las muestras antes de leerlas en el espectrofotómetro.

Es necesario el análisis estadístico para la interpretación de resultados, y el propósito de éste, es determinar las influencias individuales que pueden ser aislados y sus efectos medidos, y como po demos observar nuestra media aritmética en el método manual tiene una variación de 1 mg., siendo mínimo o casi nada el error entre las dos técnicas utilizadas.

En lo que respecta al coeficiente de variación hubo una diferencia de 0.4 mg., y en nuestra Prueba T, que es una prueba para determinar si se acepta o se rechaza la técnica propuesta, cayeron los valores en el área de aceptación, en un porcentaje del 90% de ceptación.

Por lo tanto se concluye que la microtécnica es totalmente aceptada, debido a que cumple todas las pruebas estadísticas propuestas.

1) Se montó una microtécnica que dió resultados satisfactoriamente comparables estadísticamente con los resultados normales de los autoanalizadores.

2) La diferencia máxima encontrada entre los resultados obtenidos por la técnica automatizada y por la técnica manual, en ningún caso fue mayor de 1 Mg. % de urea.

3) Las determinaciones se llevaron a cabo tanto en plasma como en sueros, y la concentración de urea determinada fue de 14 Mg % como mínimo y 114 mg % como máximo.

4) Se encontró que esta microtécnica era útil para valores mayores o menores de los ya mencionados, simplemente haciendo diluciones cuando era necesario.

5) Esta microtécnica esta siendo ya utilizada en el Hospital General "Lic. Adolfo López Mateos", dependencia del I.S.S.S.T.E. , en forma rutinaria.

7.- BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Levinson, E. L. y Mac Fate, J. H. :  
Clinical Laboratory Diagnosis, Lea  
y Febiger, 1961
- 2.- Lynch, M.J. et Al.: Métodos de La-  
boratorio, Editorial Interamerica-  
na, S.A., 1967
- 3.- Todd-Sanford.: Clinical Diagnosis  
by Laboratory Methods. W. B. Saun-  
ders Company., 1962
- 4.- Manual de Procedimientos.  
Laboratorio Clínico,  
I.S.S.S.T.E. 1970
- 5.- Hard, A.H. : Manual de Química Fi-  
siológica, Editorial Interamericana  
S.A., 1964
- 6.- Technicon Symposia,  
Automation in Analytical Chemistry,  
Medical Incorporder. N.Y., 1966
- 7.- March, W.H. Fingerhut, B. Miller.:  
Clinical Chemistry II, 625, 1968
- 8.- Chaney, A.L. and Marback, E.P. :  
Modified Reagents for Determination  
of Urea and Amonio. Clin. Chem. 8 :  
120, 1962
- 9.- Brown, H.J.: Biol. Chem. 1 : 601, -  
1945

- 10.- Grady, H.J. y Stanley, M.A.: Amer. J. Clin. 36 : 83, 1961
- 11.- Hoffman, W.S. J. Biol Chem. 120:51, 1937
- 12.- Bancroft H.: Introducción a la Bicestadística,
- 13.- Arkin, H. y Calton, R.R.: Tables for Statisticions., Barnes Nable, Inc., 1966
- 14.- Clancey, V.S.: Statistical Methods in Chemical Analysés, Nature, 159 :339 - 1947.

ESTE TRABAJO SE IMPRIMIO EN LOS TALLERES  
DE GUADARRAMA IMPRESORES, S. A. AVENIDA  
CUAUHTEMOC 1201, COL. VERTIZ NARVARTE  
MEXICO 13, D. F., TELS. 575-20-41 y 575-41-31