



UREIA ENZIMÁTICA

INSTRUÇÕES DE USO

MÉTODO:

Teste Enzimático Colorimétrico para a determinação da ureia.

FINALIDADE:

Kit para a determinação quantitativa da ureia em soro, plasma e urina. Somente para diagnóstico *in vitro*.

FUNDAMENTO:

A ureia é hidrolisada na presença da urease e água, com produção de dióxido de carbono e amônia. Na reação de Berthelot modificada, a amônia formada reage com salicilato e hipoclorito de sódio em meio básico, originando uma coloração verde. O aumento da absorbância em 580nm é diretamente proporcional a concentração de ureia na amostra.

SIGNIFICADO CLÍNICO:

A ureia é produzida no fígado e passa para a circulação sanguínea, onde posteriormente é degradada a nível intersticial e eliminada pelo suor, trato gastrointestinal e rim. Ela é livremente filtrada pelos glomérulos dependendo do estado de hidratação. Grande parte da ureia filtrada é passivamente reabsorvidas nos túbulos proximais.

Sua concentração varia em indivíduos saudáveis e é influenciada por diversos fatores, entre os principais estão grau de hidratação, ingestão diária de proteínas e função renal.

Sua principal relevância clínica é na avaliação do funcionamento renal do paciente.

A uremia é observada em pacientes com dieta rica em proteínas, insuficiência cardíaca congestiva, nefrite, insuficiência renal aguda e carcinomas no trato urinário.

A redução da ureia está relacionada a insuficiências hepáticas graves, redução do catabolismo proteico e elevação acentuada da diurese. Lesão renal pode ocasionar a retenção de ureia devido aos distúrbios da filtração, reabsorção, secreção e excreção.

Pacientes com lesão hepática apresentam redução da conversão de amônia em ureia, o que leva à hiperamoniemia. Durante o período gestacional, também pode ocorrer redução dos níveis de ureia.

Condições que elevam os níveis de ureia
1 – Pré-renal
Desidratação, choque, hipovolemia, insuficiência cardíaca congestiva.
2 – Renal
Doença renal aguda ou crônica, desidratação e edema, efeito antianabólico geral dos glicocorticoides e catabolismo proteico elevado
3 - Pós-renal
Obstrução do trato urinário

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO DOS REAGENTES:

Conservar entre 2 e 8°C

R1 - TAMPÃO: Tampão fosfato 50 mmol/L pH 6,7; EDTA 2 mmol/L; salicilato sódico 60 mmol/L; nitroprussiato de sódio 3,2 mmol/L; azida sódica 0,01%

p/v.

R2 - COR: Hipoclorito sódico 140 mmol/L; Hidróxido de sódio 150 mmol/L.

R3 - ENZIMÁTICO: Azida sódica 0,095% p/v; Urease 30.000 U/L.

R4 - PADRÃO: Azida sódica 0,095% p/v; ureia em concentração equivalente a 70 mg/dL.

ESTABILIDADE:

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo, quando armazenados a temperatura de 2 a 8 °C, bem vedados e se for evitada a contaminação durante o uso. Deve-se tomar o cuidado de proteger o reagente da exposição à luz direta. O reagente de uso é estável por 30 dias se armazenado de 2 a 8°C

TRANSPORTE:

O kit não é afetado pelo transporte desde que seja entregue ao destinatário no período máximo de 07 dias e em uma temperatura de até 37°C.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA:

O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado entre 2 e 8 °C e em sua embalagem original.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS:

- Aplicar os cuidados habituais de segurança na manipulação do reagente. Os reagentes R1 – TAMPÃO, R3 – ENZIMÁTICO E R4 - PADRÃO possuem azida sódica. Não ingerir ou aspirar. Evitar contato com a pele e mucosa;
- Os reagentes possuem 0,09% de azida sódica como conservante;
- Recomendamos a aplicação das Boas Práticas de Laboratórios Clínicos para a execução do teste;
- De acordo com as instruções de biossegurança, todas as amostras devem ser manuseadas como materiais potencialmente infectantes;
- Para o descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, sugerimos utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para a preservação ambiental;
- O reagente R2 - COR contém hipoclorito de sódio, pode provocar irritação dos olhos, pele e mucosas.
- Não misturar reagentes de lotes diferentes;
- Não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, evitando contaminação cruzada.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:

- Espectrofotômetro UV/VIS;
- Tubos e pipetas;
- Banho-maria ou termostatizador na temperatura constante de 37°C;
- Cronômetro.

AMOSTRAS BIOLÓGICAS

- **SORO, PLASMA (heparinizado ou EDTA)**

O soro deve ser separado até 2 horas após a coleta. Se armazenado entre 2 e 8 °C, a ureia é estável por até 7 dias.

- **URINA**

A urina deve ser colhida no período de 24 horas. Se armazenada entre 2 e 8 °C, a ureia é estável por 5 dias. Homogeneizar a amostra de urina e separar uma amostra de 50 mL. Adicionar uma gota (50µL) de HCl 6N e homogeneizar. Após a adição, centrifugar por 10 minutos a 3000 rpm. Após centrifugação, diluir uma alíquota da urina centrifugada na proporção de 1:50 com água deionizada (quando necessário, a diluição da urina deverá ser alterada para se obter resultado dentro do intervalo do método). Utilizar a urina diluída para proceder o ensaio. Multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição aplicado.

INTERFERÊNCIAS

Citrato, Fluoreto e Oxalato podem produzir resultados alterados.

Hemoglobina ≥ 400mg/dL e Bilirrubina ≥ 20mg/dL Triglicérides ≥ 900 mg/dL podem causar resultados alterados.

PROCEDIMENTO DO TESTE

1. Observações

- O nível de água no banho-maria deve ser superior ao dos reagentes nos tubos;
- A observação minuciosa da limpeza e secagem da vidraria, da estabilidade dos reagentes, da pipetagem, da temperatura e do tempo de reação é de extrema importância para se obter resultados precisos e exatos;
- A água utilizada nos laboratórios clínicos deve ser purificada utilizando-se métodos adequados para as finalidades de uso. Colunas deionizadoras saturadas liberam diversos íons, aminas e agentes oxidantes que deterioram os reativos.

2. Termostatar o reagente

Ajustar a temperatura do banho-maria ou termostatizador para 37°C. A temperatura deve permanecer constante durante a realização do teste.

3. Leitura do teste

Comprimento de onda: 580nm;

Cubeta: 1cm;

Temperatura: 37°C;

Medição: Zerar a absorbância contra branco. É necessário apenas um branco por bateria de testes.

4. Procedimento

Preparo do reagente de uso (Reagente): Adicionar o conteúdo do frasco que contém o reagente R3 – ENZIMÁTICO ao conteúdo do frasco que contém o reagente R1 – TAMPÃO. Pode-se preparar menores volumes do reagente de uso, adicionando-se 25 partes do R1 – TAMPÃO a 1 parte do R3 - ENZIMÁTICO. O reagente é estável por 30 dias se conservado em frasco âmbar entre 2 e 8 °C. Evitar a exposição à luz.

Pipetar na cubeta	Branco	Padrão	Amostra
R4 - PADRÃO	-	10µL	-
AMOSTRA	-	-	10µL
Reagente	1000µL	1000µL	1000µL

O reagente deve ser homogeneizado e imediatamente incubado por 5 minutos a 37 °C.

Pipetar na cubeta	Branco	Padrão	Amostra
R2 - COR	1000µL	1000µL	1000µL

O reagente deve ser homogeneizado e imediatamente incubado por 5 minutos a 37 °C.

A absorbância deve ser medida Padrão (A1) e amostra (A2) contra o reagente branco.

A cor é estável por 30 minutos.

5. Cálculos:

Ureia (mg/dL) = (Absorbância da amostra/Absorbância do Padrão) X Concentração Padrão(mg/dL)

5.1 Exemplo com Padrão

Concentração do Padrão: 70mg/dL

Absorbância da Amostra: 0,115

Absorbância do Padrão: 0,236

Ureia(mg/dL) = (0,115/0,236) x 70 = 34,11mg/dL

5.2. Exemplo com Fator de Calibração

Fator de Calibração (Fc) = Concentração do Padrão(mg/dL)/ Absorbância do

Padrão

Ureia (mg/dL) = Absorbância da Amostra x Fc

Fc = 70/0,236 = 296,61

Ureia (mg/dL) = 0,115 x 296,61 = 34,11mg/dL

5.3 exemplo com urina:

Urina (mg/24 horas) = (*mg/dL x volume urinário mL)/100

* Valor corrigido pelo fator de diluição

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

1. Linearidade da reação:

A linearidade do método é de até 300mg/dL. Para amostras com concentrações mais elevadas, diluir as amostras com 1 + 2 com solução salina a 0,9% e repetir a determinação. Multiplicar o resultado por 3.

2. Valores de referência

Amostra	Valor (mg/dL)	mmol/L
Soro/ Plasma	15 – 45mg/dL	2,49 – 7,49mmol/L
Urina	26 a 43 g/24 horas	

Estes valores devem ser utilizados como uma orientação. É recomendado que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência.

Conversão para Unidade do SI: mmol/L
Ureia (mg/dL) x 0,167 = Ureia (mmol/L)

3. Sensibilidade

0,179mg/dL

4. Comparação de métodos

O kit para a dosagem de ureia foi comparado com outros kits comercialmente disponíveis. Amostras diversas foram utilizadas na comparação dos testes, dentre essas, soros controle e amostras de pacientes. Os resultados obtidos mostraram boa concordância.

5. Repetibilidade e reprodutibilidade

Foram utilizados soros controle comercialmente disponíveis para a avaliação da repetibilidade e reprodutibilidade do kit. Os soros foram reconstituídos e/ou preparados seguindo as recomendações do fabricante. Trinta determinações dos soros controle foram realizadas com o kit de Ureia da VIDA Biotecnologia para a determinação da repetibilidade e 10 determinações por soro controle para a reprodutibilidade. As médias das determinações foram calculadas e comparadas com os valores alvo.

5.1 Repetibilidade

Soro Controle	N	Média dos valores obtidos	DP	CV
SC1	30	29,9	0,91	3,05
SC2	30	101,2	3,09	3,06
SC3	30	100,0	0,88	0,88

5.2 Reprodutibilidade

Soro Controle	N	Média dos valores obtidos	DP	CV
SC1	10	31,4	0,56	1,79
SC2	10	109,7	1,69	1,54
SC3	10	115,7	1,67	1,44

6. Controle de qualidade

Foram utilizados soros controle comercialmente disponíveis para a avaliação do kit. Os soros foram reconstituídos e/ou preparados seguindo as recomendações do fabricante. Dez determinações dos soros controle foram realizadas com o kit de Ureia da VIDA Biotecnologia. As médias das determinações foram calculadas e comparadas com os valores alvo.

Soro Controle	Valor alvo	Média dos valores obtidos	% de Recuperação
SC1	29	31,4	108,3
SC2	101	109,7	92,1
SC3	119	115,7	97,2

Todo soro controle com valores determinados para a ureia no método colorimétrico, pelo método enzimático/colorimétrico, pode ser utilizado.

RISCOS RESIDUAIS IDENTIFICADOS

As medidas de redução dos riscos foram implementadas e o produto não apresenta riscos maiores que os benefícios obtidos com o seu uso; e se usado por profissionais qualificados e treinados, cientes das precauções descritas nos produtos, desempenhará suas funções com qualidade, segurança e eficácia.

APRESENTAÇÃO DO KIT

CÓDIGO	REAGENTE	VOLUME	NÚMERO DE DETERMINAÇÕES
100/620-250	R1 - TAMPÃO	1 X 250mL	250
	R2 - COR	1 X 250mL	
	R3 – ENZIMÁTICO	1 X 10mL	
	R4 – PADRÃO	1 X 3mL	

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- BERTHELOT, M. P. E. Violet d'aniline. Report. Chim. Appl. v.1, p.282-284, 1859.
- 2- GENTZKOW, C. J.; MASEN, J. M. An accurate method for the determination of blood urea nitrogen by direct nesslerization. J. Biol. Chem.v.143, p.531-544, 1942.
- 3- Fawcett, J.K and Scott, J.E.; J.Clin. Path. 13, 156 (1960)
- 4- CHANEY, A. L.; MARBACH, E. P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. Clin. Chem. v.8, p.130-132, 1962.
- <ackay, E.M., and Mackay, L.L.; J.Clin Invest. 4, 295 (1927).
- 5- GUYTON, A. C.; HALL, J. E. Fisiologia humana e mecanismos das doenças. 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1998. 580p.
- 6- Tobacco, A., Meattini, F., Moda, E. And Tarli, P.; Clin.Chem. 25(2), 336 (1979).
- 7- YOUNG, D.S. Effects of drugs on clinical laboratory tests - vol. 2, 5 ed. Washington DC: AACC Press, 2000.
- 8- WESTGARD, J. O. et al. A multi-rule shewhart chart quality control in clinical chemistry. Clin. Chem. v.27 p.493-501, 1981.

INFORMAÇÕES AO CONSUMIDOR:

A VIDA Biotecnologia garante o desempenho deste produto dentro das especificações até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que cuidados de utilização e armazenamento indicados nos rótulos e nessa instrução sejam seguidos corretamente.














Nº DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO E DATA DE VALIDADE, VIDE RÓTULO DO PRODUTO.

PRODUZIDO E DISTRIBUÍDO POR: VIDA Biotecnologia LTDA

CNPJ: 11.308.834/0001-85

Avenida José Cândido da Silveira 2100 – Horto Florestal – CEP 31035-536; Belo Horizonte. Minas Gerais – www.vidabiotecnologia.com.br

Departamento de Serviços Associados | (31)34663351;
dsa@vidabiotecnologia.com.br
Responsável Técnico: Renato Silva CRBIO4 – 57360/04-D
Reg. M.S.: 80785070013
Rev.: 01/2022

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NO RÓTULO DO PRODUTO	
	Conteúdo suficiente para <n> testes
	Data limite de utilização do produto (dd/mm/aaaa)
	Material Calibrador
	Limite de temperatura (conservar a)
	Consultar instruções de uso
	Número de catálogo
	Produto para Diagnóstico In Vitro
	Corrosivo
	Risco Biológico
	Tóxico
	Reagente
	Data de Fabricação (mm/aaaa)
	Número de Lote