

UREIA LIQUIUV

MÉTODO:

Método GLDH.

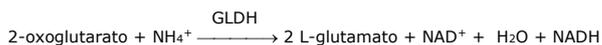
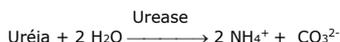
FINALIDADE:

Método enzimático para determinação cinética quantitativa da uréia em amostras biológicas (soro, plasma, urina). Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

FUNDAMENTO:

A Ureia é hidrolizada na presença de água e urease para produzir amônia e dióxido de carbono. A amônia originada desta reação combina com o 2-oxoglutarato e o NADH na presença de glutamato-desidrogenase (GLDH) para produzir glutamato e NAD⁺. O teste foi otimizado para que a GLDH seja a enzima limitante da reação. Um decréscimo na absorvância é proporcional à concentração de uréia dentro dos intervalos de tempos dados. Como a reação cinética é muito rápida este teste é destinado preferencialmente para aplicação em analisadores.

Princípio da reação



SIGNIFICADO CLÍNICO:

- As concentrações séricas de uréia variam amplamente no indivíduo saudável e são influenciadas por fatores diversos como a ingestão dietária de proteínas e o estado de hidratação.
- Os glicocorticóides e os hormônios tireoidianos elevam a uréia. Os androgênios e os hormônios do crescimento diminuem a uréia.
- A azotemia, aumento significativo na concentração plasmática de compostos nitrogenados não proteicos, principalmente uréia e creatinina, é resultado de uma filtração glomerular diminuída devido a causas:
 - Pré-renal: desidratação, choque, volume sanguíneo diminuído, insuficiência cardíaca congestiva;
 - Renal: doença renal aguda ou crônica, desidratação e edema, catabolismo de proteína aumentado e o efeito antianabólico geral dos glicocorticóides;
 - Pós-renal: obstrução do trato urinário (cálculos, carcinomas e pólipos).
- A uréia sérica diminuída ocorre somente em poucas condições. Adicionalmente a nutrição pobre, o alto consumo de fluidos ou a administração excessiva de fluidos intravenosos na presença de função renal normal resultará numa uréia diminuída porque relativamente pouca uréia será absorvida pelos túbulos renais. Durante a gravidez pode-se encontrar também valor diminuído de uréia.

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO:

Conservar entre 2 a 8°C

Reagentes:

ENZ - Enzimas: Contém Tampão TRIS (pH 7,8) 125 mmol/L; ADP 0,88 mmol/L; Urease ≥ 20 kU/L; GLDH ≥ 0,3 KU/L; Azida sódica 0,95 g/L.

SUB - Substrato: Contém 2-oxoglutarato 25 mmol/L; NADH 1,25 mmol/L; Azida sódica 0,95 g/L.

STD - Padrão: Contém Ureia 80 mg/dL ou 13,3 mmol/L; Azida sódica 0,95 g/L.

PREPARO DOS REAGENTES:

Os reagentes estão prontos para uso e podem ser aplicados diretamente em analisadores automáticos (procedimento ENZ-SUB). O reagente de uso é preparado pela mistura de 4 partes de ENZ com 1 parte de SUB. Por exemplo, 40 mL de ENZ e 10 mL de SUB.

ESTABILIDADE:

Os reagentes individuais são estáveis, mesmo após abertos, até a data de validade impressa no rótulo, quando armazenados a 2 - 8°C. Contaminação dos reagentes deve ser rigorosamente evitada. Não congelar. O reagente de uso é estável por 5 dias a 15 - 25°C, e por 4 semanas a 2 - 8°C.

TRANSPORTE:

O transporte do kit deve ser feito pela rota mais direta evitando-se as chegadas nos finais de semana e feriados no local de destino. 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 como descrito acima e em sua embalagem original.

PRECAUÇÕES:

- Não ingerir ou aspirar os reagentes. Evitar contato com a pele e as mucosas.
- Usar equipamentos de proteção individual.
- Em contato com os Olhos: Lavar cuidadosamente com água durante vários minutos. Remova as lentes de contato, se presentes e fáceis de retirar. Continue enxaguando.
- Em contato com a Pele (ou Cabelo): Retire imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água / chuveiro.
- Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação dos reagentes. Todos os reagentes contêm azida sódica como conservante. Não ingerir ou aspirar. Evitar contato com a pele e mucosa.
- Como não se pode assegurar que amostras biológicas e soros controle não transmitam infecções, recomenda-se manuseá-los de acordo com as instruções de biossegurança.
- Para descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, sugerimos utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para a preservação ambiental.
- Os riscos residuais do kit, de acordo com critérios pré-determinados, são aceitáveis em comparação aos benefícios proporcionados pelo uso. A análise de risco foi realizada de acordo com a ISO 14971, relacionada à data final e levando em consideração a atual informação de registro.

AMOSTRA BIOLÓGICA:

- SORO, PLASMA** (todos os anticoagulantes exceto heparinato de amônio) ou **URINA**. Diluir a urina 1 + 100 com água destilada (multiplicar o resultado por 101). Soro ou plasma pode ser armazenado por 3 dias a 4°C ou por períodos mais prolongados a -20°C.
- O transporte da amostra biológica, quando necessário, deve ser feito pela rota mais direta e evitando sua chegada nos finais de semana e feriados no local de destino. A amostra biológica deve ser acondicionada em recipiente hermeticamente fechado, em seguida embalada de forma a mantê-la em temperatura recomendada desde o remetente até a entrega ao destinatário. Esta amostra deve ser identificada com o símbolo de amostra biológica.

INTERFERÊNCIAS:

O teste não é influenciado pela hemoglobina até 500 mg/dL, triglicérides até 2500 mg/dL, bilirrubina até 40 mg/dL, glicose até 500 mg/dL e ácido ascórbico até 20 mg/dL.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:

- Fotômetro UV/VIS
- Pipetas
- Tubos de ensaio
- Banho Maria
- Cronômetro

MÉTODO DE ANÁLISE:

A- Leitura em espectrofotômetro:

Comprimento de onda: 340 nm, Hg 334 nm, 365 nm

Cubeta: 1 cm

Temperatura: 25 - 30 ou 37°C

Medida: Contra reagente branco (RB). Somente um reagente

branco por série é necessário.

Cinética de 2 pontos (decréscimo da absorvância).

B- ESQUEMA DE PIPETAGEM:

Procedimento Reagent Start:

Pipetar dentro das cubetas	Reagente Branco (RB)	Amostra ou STD
Amostra/STD	----	10 µL
ENZ	1000 µL	1000 µL
Homogeneizar, incubar por aproximadamente 1 minuto.		
SUB	250 µL	250 µL
Homogeneizar, ler a absorvância da amostra/padrão após 30 segundos (A ₁), disparar simultaneamente o cronômetro e ler novamente após exatamente 1 minuto (A ₂). Calcular a diferença das absorvâncias: $\Delta A_{\text{amostra/STD}} = (A_2 - A_1) - \Delta A_{\text{RB}}$		

Procedimento com Sample Start:

Pipetar dentro das cubetas	Reagente Branco	Amostra ou Padrão
Amostra/STD	----	10 µL
Reagente de uso	1000 µL	1000 µL
Homogeneizar, ler a absorvância da amostra/padrão após 30 segundos (A ₁), disparar simultaneamente o cronômetro e ler novamente após exatamente 1 minuto (A ₂). Calcular a diferença das absorvâncias: $\Delta A_{\text{amostra/STD}} = (A_2 - A_1) - \Delta A_{\text{RB}}$		

C- CÁLCULO DA CONCENTRAÇÃO DA URÉIA:

SORO, PLASMA:

$$C = 80 \times \Delta A_{\text{amostra}} / \Delta A_{\text{STD}} \text{ (mg/dL) ou}$$

$$C = 13,3 \times \Delta A_{\text{amostra}} / \Delta A_{\text{STD}} \text{ (mmol/L)}$$

URINA:

$$C = 80,8 \times \Delta A_{\text{amostra}} / \Delta A_{\text{STD}} \times \text{FD (g/L) ou}$$

$$C = 1343 \times \Delta A_{\text{amostra}} / \Delta A_{\text{STD}} \times \text{FD (mmol/L)}$$

FD: Fator de Diluição

$$\text{Curina (g/24 h)} = \text{Curina (g/L)} \times \text{Volume (L)}$$

$$\text{g/L} = \text{mg/dL} / 100$$

Fatores de Conversão para BUN / Ureia (mg/dL):

$$C (\text{BUN}) = 0,47 \times C (\text{Ureia})$$

$$C (\text{Ureia}) = 2,14 \times C (\text{BUN})$$

Exemplo:

* Soro, Plasma; 37°C; 340 nm

$$\Delta A_{\text{amostra}} = 0,030$$

$$\Delta A_{\text{STD}} = 0,109$$

$$C = 80 \times \Delta A_{\text{amostra}} / \Delta A_{\text{STD}} \text{ (mg/dL)}$$

$$C = 80 \times 0,030 / 0,109$$

$$C = 22 \text{ mg/dL}$$

ou

$$C = 13,3 \times \Delta A_{\text{amostra}} / \Delta A_{\text{STD}} \text{ (mmol/L)}$$

$$C = 13,3 \times 0,030 / 0,109$$

$$C = 3,66 \text{ mmol/L}$$

* Urina, 37°C, 340 nm

$$\Delta A_{\text{amostra}} = 0,015$$

$$\Delta A_{\text{STD}} = 0,106$$

$$\text{FD} = 101$$

$$C = 80,8 \times \Delta A_{\text{amostra}} / \Delta A_{\text{STD}} \times \text{FD (mg/dL)}$$

$$C = 80,8 \times 0,015 / 0,106 \times 101$$

$$C = 11,4 \text{ mg/dL} \times 101$$

$$C = 1155 \text{ mg/dL}$$

$$C (\text{g/L}) = 1155 \text{ mg/dL} / 100 = 11,55 \text{ g/L}$$

$$C (\text{g/24 h}) = C (\text{g/L}) \times \text{Volume (L)}$$

$$C (\text{g/24 h}) = 11,55 \times 2 = 23,1 \text{ g/24 h}$$

ou

$$C = 1340 \times \Delta A_{\text{amostra}} / \Delta A_{\text{STD}} \times \text{FD (mmol/L)}$$

$$C = 1340 \times 0,015 / 0,106 \times 101$$

$$C = 189,6 \text{ mmol/L} \times 101$$

$$C = 19152 \text{ mmol/L}$$

REV. 01/19

InVitro

VALORES DE REFERÊNCIA:

Soro: 10 - 50 mg/dL ou 1,7 a 8,3 mmol/L
 Urina: 20 - 35 g/24 h ou 333 - 583 mmol/24h

AUTOMAÇÃO:

Adaptação especial para analisadores está disponível e será enviada ao consumidor quando solicitada.

LINEARIDADE:

A reação é linear até 300 mg/dL ou 50 mmol/L.
 A linearidade depende da aplicação do analisador utilizado.
 Diluir as amostras com altas concentrações 1 + 1 com água destilada e repetir o teste. Multiplicar o resultado por 2.

SENSIBILIDADE:

A sensibilidade do kit é de 0,99 mg/dL.

CONTROLE DE QUALIDADE:

Todo soro controle contendo valores determinados para a Uréia, pelo método enzimático-colorimétrico, pode ser empregado. Recomendamos o uso de nossos soros controle HUMATROL e SERODOS.

REPETIBILIDADE:

Amostra	N	Média (mg/dL)	DP (mg/dL)	% CV
Baixa	6	27,46	0,33	1,21
Média	6	56,96	0,53	0,92
Alta	6	238,15	1,00	0,42

REPRODUTIBILIDADE:

Amostra	N	Média (mg/dL)	DP (mg/dL)	% CV
Baixa	10	28,63	0,64	2,22
Média	10	58,59	0,97	1,66
Alta	10	242,70	3,34	1,38

COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS:

O kit de Uréia LiquiUV foi comparado com outro método de Uréia comercialmente disponível. Soros controle bem como amostras de pacientes foram empregados na comparação. Os resultados foram avaliados pela análise de regressão linear. A regressão linear obtida pode ser descrita como a seguir:

$r = 1,000$
 $Y = 0,992 * x - 0,239$
 $X_{média} = 37,68$
 $Y_{média} = 38,23$

Ambos os métodos mostraram uma boa correlação e uma concordância global. E nenhum desvio significativo foi observado.

RECUPERAÇÃO EM SOROS CONTROLES:

Soros controle comerciais disponíveis foram empregados. Os soros controle foram reconstituídos/preparados de acordo com as instruções do fabricante. Cinco determinações de cada soro controle foram feitas com o método da Uréia liquiUV. A média dos valores foi calculada e comparada com os valores tabelados. O teste mostrou excelentes resultados.

NOTAS:

- A limpeza da vidraria deve ser feita com detergente neutro. O enxague deve ser exaustivo sendo o último enxague com água destilada ou deionizada.
- Traços de amônia nos materiais utilizados interferem decisivamente na reação.
- A rigorosa observação da temperatura, do tempo de incubação, da limpeza da vidraria, da estabilidade dos reagentes e da pipetagem é de extrema importância para se obter bons resultados.

APRESENTAÇÃO DO KIT:

Nº CAT	REAGENTE	VOLUME	Nº TESTES
10521-P	ENZ	1 x 120 mL	150
	SUB	1 x 30 mL	
	STD	1 x 3 mL	
10521-M	ENZ	2 x 120 mL	300
	SUB	2 x 30 mL	
	STD	1 x 5 mL	

BIBLIOGRAFIA:

- 1 - KASSIRER, J.P.. New Eng. J. Med., 285, 385 (1971).
- 2 - TALKE, H., Schubert, G.E., Klin. Wochenschr., 43, 174 (1965).
- 3 - TIETZ, N. W., Fundamentals of Clinical Chemistry, 3rd. Edition (1987), 676 - 679, W.B. Saunders Company Philadelphia
- 4 - MacKay, E.M. and Mackay, L.L., J. Clin. Invest., 4, 295 (1927).
- 5 - Sarre, H., Nierenkrankheiten. Georg Thieme ver lag Stuttgart (1959)

DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS:

Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto:
 Telefex (31) 3067-6400 E-mail: invitroms@invitro.com.br
 N.º DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO, DATA DE VALIDADE VIDE RÓTULO DO PRODUTO.

Produzido e Distribuído por In Vitro Diagnóstica Ltda
 Rua Cromita, 278, Distrito Industrial – Itabira/MG. CEP: 35903-053
 Telefone: 31-3067-6400 – Fax: 31-3067-6401
 e-mail: invitroms@invitro.com.br
 Resp. Téc.: Patrícia C. C. Vilela – CRF 4463
 Reg. M.S. 10303460434 Classe de Risco: II

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO

-  O conteúdo é suficiente para <n> testes
-  Data limite de utilização
-  Limite de temperatura (conservar a)



Número do Catálogo



Consultar Instrução de Uso



Número do lote



Produto Diagnóstico In Vitro



Data de Fabricação