Ureia UV - SNIBE

MÉTODO
Método GLDH.

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

FUNDAMENTO
A ureia é hidrolisada 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 absorbância é proporcional à concentração de ureia 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:

$$\text{Uréia} + 2\ H_2O \xrightarrow{\text{Urease}} 2\ NH_3^+ + CO_3^{2-}$$

$$2\text{-oxoglutarato} + NH_3^+ \xrightarrow{\text{GLDH}} \text{L-glutamato} + NAD^+$$

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 proteícos, 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 ureia sérica diminuída ocorre somente em poucas condições. Adicionalmente a nutrição pobre, o alto consumo de fluídos ou a administração excessiva de fluídos 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 8ºC

SUB – Substrato: β-NADH dissódico 0,324 mmol/L, Triton X-100 1,654 mmol/L, azida sódica 30,764 mmol/L, ácido alfa-cetoglutárico 16,016 mmol/L, CAPS 20,016 mmol/L.

ENZ - Enzimas: TRIS (Hidroximetil) aminometano 382,037 mmol/L, EDTA sal de potássio dihidratado 14,39 mmol/L, Triton X-100 1,654 mmol/L, azida sódica 14,613 mmol/L, urease 50 KU/L, glutamato desidrogenase 3,75 KU/L.

STD - Padrão: Ureia 80 mg/dL e ácido benzóico 0,25% p/v.

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 SUB com 1 parte de ENZ. Por exemplo, 40 mL de SUB e 10 mL de ENZ.

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

Temperatura	Estabilidade
2 a 8°C	SUB - 18 meses ENZ - 18 meses STD - 24 meses

- Não usar reagentes cuja data de validade tenha expirado.
- Os reagentes devem permanecer fora da temperatura especificada somente o tempo necessário para a realização dos testes.

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 7 dias e em uma temperatura de até 37ºC.

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.
- Este produto não deve ser utilizado após o fim do prazo de validade.
- Se existir evidência de contaminação microbiana ou se observar um aspecto turvo excessivo no produto, descarte-o.
- A limpeza da vidraria deve ser feita com detergente neutro. O enxágue 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.
- 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 transmitem 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.

AMOSTRAS BIOLÓGICAS
Tipos de Amostra: SORO, PLASMA (todos os anticoagulantes exceto heparinato de amônio) ou URINA.
Diluir a urina 1 + 100 com água destilada (multiplicar o resultado por 101).

Estabilidade da Amostra: 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.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS
Equipamento de bioquímica automático, pipeta, ponteira e lixo para descarte. Os materiais não fornecidos podem ser adquiridos no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas.

MÉTODO DE ANÁLISE

A- Leitura em espectrofotômetro:
Comprimento de onda: 340 nm, Hg 334 nm, 365 nm
Cubeta: 1 cm
Temperatura: 25 – 30 ou 37ºC
Medida: Contra reagente branco (RB). Somente um reagente branco por série é necessário. Cinética de 2 pontos (decréscimo da absorbância).

B- Procedimento de teste:

Procedimento Reagent Start:

Pipetar dentro das cubetas	Reagente Branco (RB)	Amostra ou STD
Amostra/STD	----	10 µL
SUB	1000 µL	1000 µL
Homogeneizar, incubar por aproximadamente 1 minuto.		
ENZ	250 µL	250 µL
Homogeneizar, ler a absorbância 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 absorbâncias: $\Delta A_{amostra/STD} = (A_2 - A_1) - \Delta A_{RB}$		

Procedimento com Sample Start:

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

C- Cálculo da concentração da Ureia:
SORO, PLASMA:
$C = 80 \times \Delta A_{amostra} / \Delta A_{STD}$ (mg/dL) ou

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

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

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

FD: Fator de Diluição

C_{urina} (g/24 h) = C_{urina} (g/L) x Volume (L)

g/L = mg/dL / 100

Fatores de Conversão para BUN / Uréia (mg/dL):
C (BUN) = 0,47 x C (Uréia)
C (Uréia) = 2,14 x C (BUN)

Exemplo:
*** Soro, Plasma; 37ºC; 340 nm**
$\Delta A_{amostra}$ = 0,030
ΔA_{STD} = 0,109
$C = 80 \times \Delta A_{amostra} / \Delta A_{STD}$ (mg/dL)
C = 80 x 0,030 / 0,109
C = 22 mg/dL
ou
$C = 13{,}3 \times \Delta A_{amostra} / \Delta A_{STD}$ (mmol/L)
C = 13,3 x 0,030 / 0,109
C = 3,66 mmol/L

*** Urina, 37ºC, 340 nm**
$\Delta A_{amostra}$ = 0,015
ΔA_{STD} = 0,106
FD = 101
$C = 80{,}8 \times \Delta A_{amostra} / \Delta A_{STD} \times FD$ (mg/dL)
C = 80,8 x 0,015/ 0,106 x FD
C = 11,4 mg/dL x 101
C = 1155 mg/dL

REV. 07/26

C (g/L) = 1155 mg/dL/ 100 = 11,55 g/L
C (g/24 h) = C (g/L) x Volume (L)
C (g/24 h) = 11,55 x 2 = 23,1 g/24 h

ou

$C = 1340 \times \Delta A_{amostra} / \Delta A_{STD} \times FD$ (mmol/L)
C = 1340 x 0,015 / 0,106 x 101
C = 189,6 mmol/L x 101
C = 19152 mmol/L

CALIBRAÇÃO
Use o Padrão STD que está pronto para uso. O Fator utilizado deve ser verificado regularmente. Inserir no analisador o valor definido para este parâmetro. Recomendamos a verificação da validade da calibração antes de cada corrida.
A recalibração deve ser realizada quinzenalmente ou:
-Sempre que os controles se encontrarem fora da faixa;
-Depois da troca de lote de reagente;
-De acordo com o requerido no controle de qualidade interno.

CONTROLE DE QUALIDADE
Todo soro controle contendo valores determinados para a Ureia, pelo método enzimático-colorimétrico, pode ser empregado. Recomendamos a utilização de nossos soros controle da linha Multicontrole de Bioquímica - Snibe.

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 automáticos de bioquímica está disponível e será enviada ao consumidor quando solicitada para o Departamento de Serviços Associados.

RASTREABILIDADE
A concentração de Ureia no Multicalibrador de Bioquímica - Snibe foi verificada com o material de referência SRM 909c. Ureia UV revelou recuperação bem dentro dos limites de reprodutibilidade do método. O método é rastreável para o SRM 909c.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Exatidão
O Kit Ureia UV da In Vitro foi comparado com reagente de referência do mercado e apresentou excelentes resultados de correlação em ampla faixa de concentração de amostras. A correlação dos resultados apresentou uma equação da reta = 1,057X – 4,68 com coeficiente de correlação r = 0,999.

Precisão
Repetibilidade:

Amostra	N	Média (mg/dL)	DP (mg/dL)	% CV
Baixa	25	30,4	0,47	1,56
Média	25	52,2	0,77	1,48
Alta	25	116,2	3,17	2,73

Reprodutibilidade:

Amostra	N	Média (mg/dL)	DP (mg/dL)	% CV
Baixa	25	30,8	0,65	2,10
Média	25	42,6	0,72	1,68
Alta	25	93,6	1,44	1,54

Sensibilidade
A sensibilidade do kit é de 1,17 mg/dL.

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.

Interferentes
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.

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 Ureia UV. A média dos valores foi calculada e comparada com os valores tabelados. O teste mostrou excelentes resultados.

APRESENTAÇÃO DO KIT

Cat Nº	Reagente	Volume
826-2	SUB	2 x 60 mL
	ENZ	2 x 15 mL
	STD	1 x 3 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:
Telefone: +55(31) 3067-6400 e-mail: invitroms@invitro.com.br
N.º DO LOTE, DATA DE FABRICAÇÃO, DATA DE VALIDADE VIDE RÓTULO DO PRODUTO.

Fabricado e Regularizado por: In Vitro Diagnóstica Ltda. Rua Cromita, 278, Distrito Industrial, Itabira/MG. CEP: 35903-053. CNPJ: 42.837.716/0001-98.
Telefone: +55(31) 3067-6400 e-mail: invitroms@invitro.com.br
Resp. Téc.: Patrícia C. C. Vilela – CRF 4463
ANVISA:10303460614 Classe de Risco: II

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO


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