

BioTécnica
BIOTECNOLOGIA AVANÇADA

Ureia Enzimática
Enzymatic Urea | Urea Enzimática
Ref. 10.013.00

Responsável Técnico:
Dr. Gilson Sérgio Pizzo
CRF MG – 5310
MS 80027310234

FINALIDADE
Kit destinado à determinação de Ureia no soro, plasma e urina. Uso em diagnóstico *in vitro*.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E MANUSEIO

- Conservar de 2 a 8 °C.
- Manter ao abrigo da luz.
- A validade do kit está impressa no rótulo da embalagem.
- Não usar reagentes com validade expirada.

PRINCÍPIO DE FUNCIONAMENTO
A ureia da amostra é hidrolisada pela urease com produção de gás carbônico e íons amônio. Este reage com salicilato e hipoclorito de sódio em meio alcalino, na presença de nitropirussiato, produzindo indofenol, de coloração verde, que pode ser medido em espectrofotômetro em 580 nm. A intensidade da cor é proporcional à concentração de ureia na amostra.

AMOSTRAS: TIPO, COLETA, MANUSEIO, PREPARO E PRESERVAÇÃO

Tipo de Amostra: Soro, plasma (EDTA e heparina) e urina.

Coleta, manuseio e preparo: Realizar a coleta da amostra conforme Boas Práticas de Laboratório Clínico. As amostras a serem analisadas devem ser tratadas como material potencialmente infectante.

Preservação: A Ureia no soro e plasma (EDTA e heparina) é estável por 7 dias se conservada em temperatura de 20 a 25°C, 7 dias se conservada em temperatura de 4 a 8°C e 12 meses a -20°C. A Ureia na urina é estável 2 dias se conservada em temperatura de 20 a 25°C, 7 dias se conservada em temperatura de 4 a 8°C e 28 dias se conservada em temperatura de -20°C. Coletar a urina de 24 horas em um frasco contendo 2 mL de HCl 50% v/v. Centrifugar por 10 minutos a 3000 rpm. Diluir uma alíquota da urina centrifugada na proporção de 1:50 com água purificada e proceder ao ensaio. Multiplicar o resultado obtido por 50. Esta diluição deve resultar uma medida dentro do intervalo operacional, para valores superiores realizar nova diluição alterando a proporção.

DESCRIÇÃO DO PRODUTO

R 1	Tampão Fosfato ≥ 3 mmol/L; Salicilato de sódio ≥ 10 mmol/L; Nitropirussiato de sódio ≥ 1 mmol/L; estabilizantes; conservante.	
R 2	Hipoclorito sódico ≥ 0,01% v/v; Hidróxido de sódio ≥ 100 mmol/L.	
R 3	Tampão Fosfato ≥ 10 mmol/L; Glicerol ≥ 20% v/v; Urease ≥ 50.000 U/L; estabilizantes; conservante.	
STD	Tampão Fosfato ≥ 2 mmol/L; Ureia em concentração equivalente a 70 mg/dL; conservante. Rastreável ao material de referência NIST 912a.	

ESTABILIDADE EM USO

- Após aberto, o produto (R1, R2, R3 e STD) em uso é estável até a validade impressa no rótulo desde que seguidas a condições de armazenamento recomendadas (2 a 8°C).
- A estabilidade do reagente de trabalho é de 21 dias, desde que seguidas a condições de preparo e armazenamento recomendadas (2 a 8°C).
- Os reagentes devem permanecer fora da temperatura especificada somente o tempo necessário para a realização dos testes.

TRATAMENTO E MANUSEIO DO PRODUTO

A) PREPARAÇÃO DOS REAGENTES
Reagente de Trabalho (R1 e R3):
Misturar na proporção: **25** partes do R1 + 1 parte do R3. Homogeneizar suavemente.

R2 e STD:
Prontos para uso.

B) INTERVALO OPERACIONAL
Soro e Plasma: O intervalo operacional do produto é de 2,206 mg/dL a 200 mg/dL. Para valores superiores, diluir a amostra com NaCl 150 mM (0,9%), realizar nova dosagem e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.
Urina: O intervalo operacional do produto é de 2,303 g/L a 100,00 g/L corrigido pelo fator de diluição.

CONTROLE DE QUALIDADE
O uso de controles deve ser prática rotineira no laboratório. Sugere-se usar um controle na faixa de referência ou no nível de decisão e outro controle com valor em outra faixa de significância clínica. Para Calibração e Controle Interno de Qualidade Laboratorial recomenda-se o uso do soro calibrador e dos soros controles abaixo:

Soro Calibrador - Autocal H	13.002.00
Soro Controle Normal - Quantinorm	13.003.00
Soro Controle Patológico - Quantialt	13.004.00

PROCEDIMENTO DE ENSAIO, CÁLCULOS E INTERPRETAÇÃO

A) PROCEDIMENTO DE ENSAIO
1. Pipetar em tubos de ensaio:

	Branco	Padrão	Amostra
STD	---	10 µL	---
Amostra	---	---	10 µL

Água Purificada	10 µL	---	---
Reagente de trabalho	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

2. Homogeneizar bem e incubar os tubos durante 5 minutos a 37 °C.

3. Acrescentar:

R2	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL
----	--------	--------	--------

4. Homogeneizar bem e incubar os tubos durante 5 minutos a 37 °C.

5. Medir a absorbância do Padrão (STD) e da Amostra frente ao Branco a 580 nm. A cor é estável por 15 minutos.

B) CÁLCULOS
Soro/Plasma:
Ureia (mg/dL) = $\frac{\text{Absorbância da Amostra}}{\text{Absorbância do STD}} \times \text{Concentração do STD (mg/dL)}$

Exemplo:
Concentração do STD = 70 mg/dL
Absorbância da Amostra = 0,209
Absorbância do STD = 0,378
Ureia (mg/dL) = $\frac{0,209}{0,378} \times 70 = 38,7$ mg/dL

Com Fator de Calibração:
Fator de Calibração = $\frac{\text{Concentração do STD (mg/dL)}}{\text{Absorbância do STD}}$

Ureia (mg/dL) = Absorbância da amostra x Fator de Calibração

Exemplo:
Fator de Calibração = $\frac{70}{0,378} = 185$

Ureia (mg/dL) = 0,209 x 185 = 38,7 mg/dL

Urina:
Determinar a concentração de ureia na amostra de urina utilizando o mesmo procedimento de cálculo para soro. Multiplicar o valor obtido por 50, para obter o resultado em mg/dL. Este deve ser utilizado para calcular o valor da ureia em g/24h, conforme equação abaixo:

Ureia (g/24 horas) = $\frac{\text{mg/dL} \times \text{volume urinário (em L)}}{100}$

C) INTERPRETAÇÃO
A ureia é o principal metabólito nitrogenado do catabolismo das proteínas. Mais de 90% da ureia é excretada através dos rins, consequentemente, a doença renal é associada ao acúmulo de ureia no sangue. A dosagem de urina sanguínea e urinária pode fornecer informações clínicas úteis. Ela pode estar elevada em virtude de diferentes fatores, como dieta rica em proteína, catabolismo proteico elevado, reabsorção das proteínas sanguíneas após hemorragia gastrointestinal, tratamento com cortisol e seus análogos, desidratação e perfusão reduzida dos rins. Também está elevada em condições pós-renais obstrutivas como tumores malignos, nefrolitase e prostatismo.

INTERFERENTES OU LIMITAÇÕES
Hemólise, Ictericia e Lipemia:
Soro/Plasma: Hemoglobina > 500 mg/dL / Bilirrubina > 12 mg/dL / Triglicérides > 700 mg/dL interferem no ensaio.
Urina: Hemoglobina > 150 mg/dL / Bilirrubina > 20 mg/dL interferem no ensaio.
Medicamentos: consultar referência bibliográfica recomendada (Young, 2000).

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO
Sensibilidade:
Soro/Plasma: Limite de detecção: 0,77 mg/dL / Limite de quantificação: 2,206 mg/dL.
Urina: Limite de detecção: 0,00608 g/L / Limite de quantificação: 2,303 g/L, corrigidos pelo fator de diluição.
Especificidade Analítica: O produto determina especificamente Ureia na presença de outras substâncias interferentes na amostra, até as concentrações informadas acima.

Exatidão:
Soro/Plasma: O método foi comparado com método similar pela determinação de 40 amostras em duplicata. Foi obtida a equação de regressão y = 0,995x + 0,08 e coeficiente de correlação r=0,9997. Utilizando esta equação o erro metodológico total estimado de -0,18% para um nível de 25,0 mg/dL e -0,45% para um nível de 150,0 mg/dL.
Urina: O método foi comparado com método similar pela determinação de 20 amostras em duplicata. Foi obtida a equação de regressão y = 1,013x + 0,231 e coeficiente de correlação r=0,9991. Utilizando esta equação o erro metodológico total estimado de 2,07% para um nível de 30,00 g/24h e 1,53% para um nível de 100,00 g/24h.

Precisão:
Soro/Plasma: Foi determinada utilizando amostras em 03 níveis de decisão, sendo duas corridas em duplicata por dia durante 20 dias, sendo obtido:

Amostras (mg/dL)	Repetições	Precisão intra-corrida		Precisão total	
		SD (mg/dL)	%CV	SD (mg/dL)	%CV
37,02	80	0,53	1,5	1,06	2,9
88,00	80	0,26	0,3	1,42	1,6
162,68	80	0,81	0,5	0,96	0,6

%CV: Coeficiente de variação expresso em porcentagem; SD: Desvio Padrão

Urina: Foi determinada utilizando amostras em 02 níveis de decisão, sendo duas corridas em duplicata por dia durante 20 dias, sendo obtido:

Amostras (mg/dL)	Repetições	Precisão intra-corrida		Precisão total	
		SD (mg/dL)	%CV	SD (mg/dL)	%CV
953,75	80	10,98	1,2	12,37	1,3
2676,03	80	20,79	0,8	21,98	0,8

%CV: Coeficiente de variação expresso em porcentagem; SD: Desvio Padrão

RISCOS RESIDUAIS, CUIDADOS E PRECAUÇÕES

- Utilizar os EPI's de acordo com as Boas Práticas de Laboratório Clínico.

- Não misturar reagentes de lotes diferentes.
- Não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, a fim de evitar contaminação cruzada.
- Não usar o reagente quando este apresentar característica visual em desacordo com o especificado na FISPQ do produto.
- Evitar deixar os reagentes fora das condições de armazenamento especificadas, quando os mesmos não estiverem em uso.
- Usar pipetas de vidro e ponteiros descartáveis específicas para cada amostra, controle, padrão/calibrador e reagente.
- O nível de água do banho-maria deve ser superior ao dos tubos de ensaio que contém as reações.
- O laboratório deve estabelecer os requisitos químicos, microbiológicos e de partículas para a água antes do seu uso para cada uma das suas aplicações e deve definir as especificações ou tipos de água que os atenda. Uma vez que a pureza necessária tenha sido definida, o sistema de purificação deve ser validado e é importante garantir que a água obtida continue a atender às especificações por meio de verificações periódicas.
- A limpeza e secagem adequadas do material usado são fatores fundamentais para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.

INTERVALO DE REFERÊNCIA

	mg/dL	mmol/L
Soro e Plasma	13 - 45	2,17 - 7,51
Urina	26 a 43 g/24 horas	

Estes valores são unicamente para orientação, sendo recomendável que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.
Conversão para Unidade do Sistema Internacional (SI): mmol/L
Ureia (mg/dL) x 0,167 = Ureia (mmol/L)

MATERIAL NECESSÁRIO PARA REALIZAÇÃO DO ENSAIO

- Espectrofotômetro ou fotômetro para leitura em 580 (570 a 650) nm.
- Banho de água, termostataizado a 37 °C.
- Pipetas de vidro e/ou automáticas.
- Relógio ou Cronômetro.
- Tubos de ensaio.

ALERTAS E PRECAUÇÕES COM RELAÇÃO AO DESCARTE DO PRODUTO

- As informações de Descarte, Segurança e Primeiros Socorros estão descritas na Ficha Individual de Segurança de Produtos Químicos (FISPQ) deste produto, disponível em www.biotechnica.ind.br ou pelo telefone (35)-3214-4646.
- Descartar as sobras das reações de acordo com as Boas Práticas de Laboratório Clínico (BPLC) e Programa de Gerenciamento de Resíduos de Serviço de Saúde (PGRSS).

GARANTIA DE QUALIDADE / SAC - SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

Antes de serem liberados para o consumo, todos os reagentes BioTécnica são testados pelo Departamento de Controle de Qualidade. A qualidade dos reagentes é assegurada até a data de validade mencionada na embalagem de apresentação, desde que armazenados e transportados nas condições especificadas. Os dados relativos ao Controle de Qualidade deste produto (lote impresso nas etiquetas dos frascos de reagentes) ou qualquer dúvida na utilização deste kit, entrar em contato com a Assessoria Científica da BioTécnica Ltda, através do telefone +55 35 3214 4646 ou pelo email sac@biotechnicaltda.com.br

AUTOMAÇÃO
Este procedimento é automatizável na maioria dos analisadores. Os protocolos estão disponíveis em www.biotechnica.ind.br

ENGLISH
INTENDED USE
Kit for the determination of urea in serum, plasma and urine. Use in in vitro diagnostic.

STORAGE AND HANDLING

- Store at 2 to 8 ° C.
- Protect from light.
- The validity of the kit is printed on the package label.
- Do not use reagents whose date has expired.

WORKING PRINCIPLE
The urea of the sample is hydrolyzed by urease with production of carbonic gas and ammonium ions. It reacts with salicylate and sodium hypochlorite in alkaline medium, in the presence of nitropirussiato, producing indophenol, green in color, which can be measured in a spectrophotometer at 580 nm. The intensity of the color is proportional to the concentration of urea in the sample.

SAMPLES: TYPE, COLLECTION, HANDLING, PREPARATION AND PRESERVATION
Sample Type: Serum, plasma (EDTA and heparin) and urine.
Collection, handling and preparation: Perform the sample collection according to Good Clinical Laboratory Practice. The samples to be analyzed should be treated as potentially infectious material.
Preservation: Urea in serum and plasma (EDTA and heparin) is stable for 7 days if stored at 20 to 25 ° C, 7 days if stored at 4 to 8 ° C and 12 months at -20 ° C. Urea in the urine is stable for 2 days if stored at 20 to 25 ° C, 7 days if stored at 4 to 8 ° C and 28 days if stored at -20 ° C. Collect 24-hour urine in a vial containing 2 mL of HCl 50%. Centrifuge for 10 minutes at 3000 rpm. Dilute an aliquot of the urine centrifuged at the ratio of 1:50 with purified water and perform the assay. Multiply the result obtained by 50. This dilution should result in a measurement within the operating range. For higher values perform new dilution by changing the ratio.

PRODUCT DESCRIPTION

R 1	Phosphate buffer ≥ 3 mmol/L; Sodium salicylate ≥ 10 mmol/L; Sodium nitroprusside ≥ 1 mmol/L; stabilizers; preservative.	
R 2	Sodium hypochlorite ≥ 0,01% v/v; Sodium hydroxide ≥ 100 mmol/L.	

R 3	Phosphate buffer ≥ 10 mmol/L; Glycerol ≥ 20% v/v; Urease ≥ 50.000 U/L; stabilizers; preservative.	
STD	Phosphate buffer ≥ 2 mmol/L; Urea at a concentration equivalent to 70 mg/dL; preservative. Traceable to NIST reference material 912a.	

STABILITY IN USE

- After opening, the product (R1, R2, R3 and STD) in use is stable up to the expiration date printed on the label since recommended storage conditions (2 to 8 ° C) are followed.
- The stability of the working reagent is 21 days, since recommended preparation and storage conditions are followed (2 to 8 ° C).
- Reagents must remain outside the specified temperature only the time required for testing.

TREATMENT AND HANDLING OF THE PRODUCT
A) REAGENT PREPARATION
Working Reagent (R1 and R3):
Mix in proportion: 25 parts of R1 + 1 part of R3. Homogenize gently.
R2 and STD:
Ready for use.

B) OPERATING INTERVAL
Serum and Plasma: The operating range of the product is from 2,206 mg/dL to 200 mg/dL. For higher values, dilute the sample with 150 mM NaCl (0,9%), carry out a new dosage and multiply the result obtained by the dilution factor.
Urine: The operating range of the product is from 2,303 g/L to 100,00 g/L corrected by the dilution factor.

QUALITY CONTROL
The use of controls should be routine practice in the laboratory. It is suggested to use one control in the reference range or at the decision level and another control with value in another range of clinical significance. For Calibration and Internal Quality Control Laboratory it is recommended to use the calibrator serum and the control sera below:

Calibrator Serum - Autocal H	13.002.00
Normal Control Serum - Quantinorm	13.003.00
Pathological Control Serum - Quantialt	13.004.00

TEST PROCEDURE, CALCULATION AND INTERPRETATION
A) TEST PROCEDURE
1. Pipette in the assay tubes:

STD	White	Standard	Sample
---	---	10 µL	---
Sample	---	---	10 µL
Purified Water	10 µL	---	---
Working Reagent	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

2. Homogenize well and incubate the tubes for 5 minutes at 37 ° C.

3. Add:

R2	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL
-----------	--------	--------	--------

4. Homogenize well and incubate the tubes for 5 minutes at 37 ° C.

5. Measure Standard Absorbance (STD) and Sample vs. Blank at 580 nm. Color is stable for 15 minutes.

B) CALCULATIONS
Serum / Plasma:
Urea (mg / dL) = $\frac{\text{Sample Absorbance}}{\text{Absorbance of STD}} \times \text{STD Concentration (mg / dL)}$

Exemplo:
STD concentration = 70 mg / dL
Sample Absorbance = 0.209
Absorbance of STD = 0.378
Urea (mg / dL) = $\frac{0,209 \times 70}{0,378} = 38,7$ mg / dL

With Calibration Factor:
Calibration Factor = $\frac{\text{STD Concentration (mg / dL)}}{\text{Absorbance of STD}}$



Urea (mg / dL) = Sample Absorbance x Calibration Factor

Exemplo:
Calibration Factor = $\frac{70}{0,378} = 185$
Urea (mg / dL) = 0.209 x 185 = 38.7 mg / dL

Urine:
Determine the concentration of urea in the urine sample using the same calculation procedure for serum. Multiply the value obtained by 50 to obtain the result in mg / dL. This should be used to calculate the value of urea in g / 24h, according to the equation below:
Urea (g / 24 hours) = $\frac{\text{mg / dL} \times \text{urinary volume (in L)}}{100}$

C) INTERPRETATION
Urea is the major nitrogen metabolite of protein catabolism. More than 90% of the urea is excreted through the kidneys, consequently, kidney disease is associated with accumulation of urea in the blood. The dosage of blood and urine urea can provide useful clinical information. It may be elevated because of different factors such as high protein diet, high protein catabolism, blood protein reabsorption after a gastrointestinal bleeding, treatment with cortisol and its analogs, dehydration and reduced kidney perfusion. It is also elevated in obstructive post-renal conditions such as malignant tumors, nephrolithiasis and prostatism.

INTERFERING AND LIMITATIONS
Hemolysis, Jaundice and Lipemia:

	<p>Reagente e seu número/abreviação Reagent and its number/abbreviation Reactivo y su número/abreviación</p>		<p>Corrosivo Corrosive Corrosivo</p>
---	--	--	--