

Ref. BA391

MS 81666810024

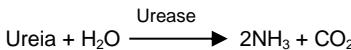
Método

Cinético UV.

Finalidade

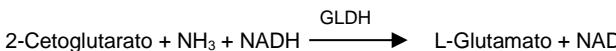
Sistema para determinação quantitativa da ureia no soro, plasma e urina.
Somente para uso diagnóstico in vitro.
Princípio

A ureia é hidrolisada pela amônia e dióxido de carbono através da urease como a reação a seguir:



A amônia reage com o 2-cetoglutarato e NADH em uma reação catalisada pela glutamato desidrogenase (GLDH), ocorrendo oxidação do NADH a NAD.

A oxidação de NADH a NAD+, medida pela diminuição de absorbância em 340 nm, é proporcional à concentração de ureia na amostra.


Significado Clínico

Produzida no fígado, ureia é a principal fonte de excreção do nitrogênio do organismo e é um produto da destruição de proteínas, sendo que a sua maior parte é excretada pela urina, e pequenas quantidades podem ser excretadas pelo suor e degradadas por bactérias intestinais. Grande parte da ureia filtrada pelos rins é reabsorvida.

No indivíduo saudável, sua concentração varia de acordo com diferentes fatores tais como o conteúdo de proteínas da dieta e a hidratação.

Por isso, a ureia é um marcador de função renal. A lesão renal provoca uma retenção de substâncias tóxicas como a ureia através de distúrbios da filtração, reabsorção, secreção e excreção.

Os valores de ureia estão aumentados na insuficiência renal (falência aguda e crônica dos rins), dieta rica em proteínas, tumores, infarto do miocárdio, trauma, infecções e uso de corticosteroides. Os valores de ureia poderão estar diminuídos em casos de desnutrição, dieta pobre em proteínas, insuficiência hepática, gestação, doença celíaca.

A diminuição da ureia pode ocorrer na soroterapia com carboidratos, redução do catabolismo proteico e aumento da diurese.

Reagentes
Reagente nº 1 - Tampão - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Tampão Tris 100 mmol/L, ADP 0,7 mmol/L, α-Cetoglutarato 9 mmol/L, Azida Sódica 15,38 mmol/L, Urease ≥ 6500 U/L, Glutamato Desidrogenase ≥ 1100 U/L.

Reagente nº 2 - Coenzima - Coenzima - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: NADH 0,32 mmol/L e Azida Sódica 15,38 mmol/L. (pH 10,1).

Reagente nº 3 - Padrão - Conservar entre 2 e 8°C. Manter vedado. Contém: Ureia 70,0 mg/dL

Estabilidade, Condições de Armazenamento e Transporte

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo do produto, quando conservados na temperatura recomendada (2 a 8°C), bem vedados e se evitado de contaminação durante o uso. Antes de serem abertos, os reagentes podem ser transportados em temperatura que não excede 30°C, até um limite de 120 horas. **Não congelar.**
Cuidados Especiais e Precauções

- Não utilizar os reagentes quando se apresentarem turvos.
- As amostras a serem analisadas devem ser tratadas como material potencialmente infectante.
- Utilizar os EPI's de acordo com as Boas Práticas de Laboratório Clínico.
- O Tampão (1) e a Coenzima (2) contêm azida sódica que é tóxica e irritante para pele e mucosa.
- As informações de Descarte, Segurança e Primeiros Socorros estão descritas na Ficha Individual de Segurança de Produtos Químicos (FISPQ) deste produto, disponível em www.bioanalitica.com.br ou pelo telefone 0800 006 8111.
- Reagentes de lotes diferentes não devem ser misturados.
- Não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, a fim de evitar contaminação cruzada.
- Evitar deixar os reagentes fora das condições de armazenamento especificadas, quando os mesmos não estiverem em uso.

- O tempo de reação, pipetagens e temperatura de trabalho são muito importantes para obtenção de resultados corretos.
- Usar pipetas de vidro e ponteiras descartáveis específicas para cada amostra, controle, padrão/calibrador e reagente.

Materiais Necessários e Não Fornecidos

- Analisador bioquímico automático, semiautomático ou espectrofotômetro;
- Pipetas de vidro e/ou automáticas;
- Ponteiras;
- Tubos de ensaio;
- Cronômetro.

Amostra

Soro ou plasma (Fluoreto, Heparina e EDTA) e urina. O analito no soro ou plasma é estável por 12 horas armazenada entre 15 e 25°C e 3 dias entre 2 e 8°C, quando livres de contaminação. Urina de 24 horas deve ser colhida em frasco contendo 2,0 mL de HCl a 50% (v/v) e centrifugar antes da utilização.

Para descarte dos reagentes e materiais biológicos devem-se seguir as normas locais, estaduais ou federais de proteção ambiental.

Interferências e Limitações

Os valores de ureia no sangue aumentam consideravelmente com a idade e após exercícios físicos. Para o controle terapêutico, deve-se colher a amostra de sangue sempre no mesmo horário devido a variações diárias da ureia.

Na gravidez, os níveis de ureia no sangue e na urina diminuem consideravelmente. A contaminação da água, vidraria e ambiente com amônia pode produzir resultados falsamente elevados. Concentrações de bilirrubina até 43,2 mg/dL e triglicérides até 1216 mg/dL, hemoglobina até 655 mg/dL e ácido ascórbico até 20,0 mg/dL não produzem interferências significativas.

Procedimento Técnico
Equipamentos Automáticos

Para uso em analisadores automáticos, verificar o protocolo de automação no site www.bioanalitica.com.br ou através do SAC.

Nota: Recomendamos o uso do Calibrador – Ref. BA052 para calibração. Para avaliar a precisão das dosagens, recomendamos o uso do Controle N – Ref. BA115 e Controle P – Ref. BA118.

Preparo do Reagente de Trabalho

Misturar 4 partes do Reagente Nº 1 - Tampão com 1 parte do Reagente Nº 2 - Coenzima. O Reagente de Trabalho é estável por 5 dias entre 20 e 30°C e 30 dias entre 2 e 8°C. Manter o reagente fora da temperatura somente o tempo necessário para retirada do volume a ser utilizado. Opcionalmente pode se preparar outros volumes de acordo com a demanda do laboratório.

Método Cinético Contínuo
Condição de Reação:

Cubeta termostatizada a 37°C com caminho ótico de 1 cm de espessura de solução. Comprimento de onda 340 nm. Banda de passagem ≤ 2 nm. Luz espúria ≤ 0,1.

Reação:

Em um tubo rotulado Teste ou Padrão, colocar 1,0 mL do Reagente de Trabalho e incubar a 37°C por 1 minuto. Adicionar 10 µL de Amostra e Padrão, misturar e transferir para cubeta termostatizada a 37°C. Disparar o cronômetro e efetuar as leituras aos 30 e 90 segundos. Calcular a diferença de absorbância (ΔA) entre os dois tempos ($A_{30} - A_{90}$). Utilizar este valor para cálculo do resultado.

Cálculos e Exemplo

Usando as leituras das absorbâncias, calcular a média da variação da absorbância por minuto (ΔA).

$$\text{Ureia (mg/dL)} = \frac{\Delta A \text{ Teste}}{\Delta A \text{ Padrão}} \times 70$$

Exemplo

Teste: $A_{30} = 1,760 \quad A_{90} = 1,690 \quad \Delta A \text{ Teste} = 1,760 - 1,690 = 0,065$

Padrão: $A_{30} = 1,712 \quad A_{90} = 1,596 \quad \Delta A \text{ Padrão} = 1,712 - 1,596 = 0,116$

Ref. BA391

MS 81666810024

$$\text{Ureia (mg/dL)} = \frac{0,065}{0,116} \times 70 = 39,2$$

Como a reação segue a Lei de Lambert-Beer, o Fator de calibração pode ser usado.

Exemplo de Cálculo do Fator

$$\text{Fator de calibração} = \frac{\text{Concentração do padrão (70 mg/dL)}}{\Delta A \text{ Padrão}} = \frac{70}{0,116} = 603$$

$$\text{Ureia (mg/dL)} = 0,065 \times 603 = 39,2$$

Os resultados deverão ser expressos em mg/dL.

Urina

$$\text{Ureia (mg/24h)} = \frac{\Delta A \text{ da Amostra} \times \text{Fator} \times 50 \times \text{Volume (L)}}{100}$$

Os resultados serão expressos em g/24h.

Características do Desempenho

Comparação de Métodos

O método foi comparado com outro produto com metodologia semelhante através de 40 amostras de soro humano. Através de modelos estatísticos, os resultados foram analisados e resultaram na equação de regressão linear onde Método Bioanalítica (y) = $0,200 + 0,988^*$ Método comparativo (x) e coeficiente de correlação igual a 0,997.

Sensibilidade

Uma amostra proteica não contendo ureia foi utilizada para calcular o limite de detecção do ensaio. A média encontrada foi 0,5000 mg/dL equivalente a 20 determinações, com desvio padrão de 0,1174 mg/dL.

A sensibilidade, que indica o limite de detecção do método, corresponde à média mais 3 vezes o desvio padrão, que é igual a 0,8521 mg/dL.

Linearidade

A reação é linear até 250 mg/dL. Para amostras com valores acima de 250 mg/dL, diluir a amostra com Cloreto de Sódio 0,85%, repetir a dosagem e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

Repetitividade

A repetitividade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (mg/dL)	7,50	30,32	83,68
Desvio Padrão (mg/dL)	0,12	0,96	0,91
Coeficiente de Variação (%)	1,66	3,15	1,08

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas durante 20 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (mg/dL)	13,34	34,65	87,83
Desvio Padrão (mg/dL)	0,76	1,00	2,60
Coeficiente de Variação (%)	5,68	2,89	2,96

Valores de Referência

Estes valores de referência devem ser usados apenas como orientação. Sugere-se que cada laboratório estabeleça seus próprios valores para população atendida. Os resultados dos testes devem ser analisados por um profissional responsável.

Soro ou Plasma

Adultos: 15 a 45 mg/dL.

Crianças e adolescentes

Idade de 1 dia a 12 meses: 2 a 34 mg/dL.

De 1 a 13 anos: 8 a 36 mg/dL

Urina: 26 a 43 g/24 horas

Unidades Convencionais (mg/dL) x 0,166 = Unidade SI (mmol/L).

Controle Interno da Qualidade

O laboratório clínico deve possuir um programa interno de controle da qualidade, para assegurar que todos os procedimentos, normas, limites e tolerância para variações sejam claramente definidos. Ressaltamos que todos os sistemas de medição apresentam uma variabilidade analítica, que deve ser monitorada pelos laboratórios. Portanto, é recomendável a utilização de controles, que permitem avaliar a precisão e a exatidão das dosagens. Sugere-se utilizar soluções estabilizadas da linha de controles e calibradores da Bioanalítica.

Observações

- A limpeza e secagem adequadas do material usado são fatores fundamentais para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
- A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes. A limpeza da vidraria deve ser feita com detergente neutro. O enxágue deve ser exaustivo sendo os últimos com água destilada ou deionizada.
- A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, a água deve ser do Tipo II, com resistividade > 1 megaohms/cm ou condutividade < 1 microsiemens/cm e concentração de silicatos < 0,1 mg/L. Para o enxágue inicial da vidraria, a água pode ser do Tipo III, com resistividade > 0,1 megahoms ou condutividade < 10 microsiemens.

No enxágue final, utilizar água do Tipo II. Coluna deionizadora com sua capacidade saturada libera água alcalina, vários íons e também substâncias com grande poder de oxidação ou redução que deterioram os reagentes em poucos dias ou mesmo horas, alterando de maneira imprevisível os resultados. Assim, é fundamental estabelecer um programa de controle da qualidade da água.

Referências Bibliográficas

- Westgard JO, Barry PL, Hunt MR. Clin. Chem. 1981; 27: 493-501.
- Hallet CJ, Cook JGM. Clin Chem Acta 1971; 35:37
- Bergmeyer HU. Methods of Enzymatic Analysis, 3^a ed, vol 8, VCH, Deerfield Beach, 1985, pp 444-449.
- Soldin SJ, Brugnara C, Wong EC: Pediatric Reference Ranges, 5^a edição, Washington: Academic Press, 2005:195-196.
- Gutmann I, Bergmeyer HU. Methods of enzymatic Analysis, ed Bergmeyer HU. Academic Press, NY, 1974; 4: 1794-1798.
- YOUNG, DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests - vol. 2, 5 ed. Washington DC: AACC Press, 2000.
- Ergmeyer, HU., Methods of Enzymatic Analysis, vol. 9, VCH Publishers, 1985, 449-453.
- Bioanalítica: Dados internos de arquivo do P&D.

Termos e Condições de Garantia

A Bioanalítica Diagnóstica garante o desempenho e a qualidade deste produto, dentro das especificações, até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que utilizados, armazenados e transportados nas condições adequadas.

Apresentações

Ref.	Volume	Reagente 1	Reagente 2	Reagente 3
BA391-100	100 mL	1 x 80 mL	1 x 20 mL	1 x 3 mL
BA391-200	200 mL	2 x 80 mL	2 x 20 mL	1 x 3 mL

Bioanalítica Diagnóstica S/A

Rua Álvares da Silva, 12 - União

CEP: 31160-360 – Belo Horizonte MG - Brasil

Tel. +55 31 3657-0051

www.bioanalitica.com.br

E-mail: bioanalitica@bioanalitica.com.br

CNPJ: 20.264.948/0001-61 – Indústria Brasileira

SAC: 0800 006 8111

E-mail: sac@bioanalitica.com.br

Revisão: Outubro / 2022.