

URÉIA UV - Liquiform

Instruções de Uso

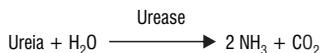
Ref.: 104
ANVISA 10009010020

Finalidade . Sistema enzimático para determinação da ureia no soro, plasma e urina por fotometria em ultravioleta usando cinética de dois pontos (tempo fixo).

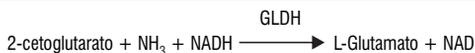
Uso profissional.

[Somente para uso diagnóstico in vitro.]

Princípio . A ureia é hidrolisada pela urease produzindo amônia e dióxido de carbono.



A amônia reage com o 2-cetoglutarato e NADH em uma reação catalisada pela glutamato desidrogenase (GLDH), promovendo a oxidação do NADH a NAD. A consequente redução da absorbância medida em 340 nm é proporcional à concentração de ureia na amostra.



Características do sistema . Existem vários métodos para determinação da ureia, mas os que utilizam acoplamento de enzimas são mais convenientes e extensivamente usados nos laboratórios clínicos.

O sistema apresenta uma linearidade até 300 mg/dL reduzindo-se acentuadamente a repetição de testes em valores elevados. O produto da Labtest não sofre interferências provocadas por valores medianamente elevados de bilirrubina, hemoglobina e triglicérides.

As substâncias utilizadas na reação se encontram distribuídas adequadamente em dois reagentes, para conferir maior estabilidade na forma líquida original e manutenção das condições ótimas da reação, permitindo a utilização direta dos reagentes em sistemas automáticos.

A metodologia monorreagente pode ser aplicada utilizando um Reagente de Trabalho estável 28 dias sob refrigeração, obtendo-se desempenho adequado mesmo em situações de baixas demandas do teste. O sistema permite, ainda, preparar o volume de Reagente de Trabalho necessário para apenas uma medição da concentração da ureia.

O método é facilmente aplicado em sistemas automáticos e semiautomáticos capazes de medir absorbância em 340 nm.

Metodologia . Enzimático UV.

Reagentes

1. [R1] - Reagente 1 - Armazenar entre 2 - 8 °C.

Contém Tampão 20 mmol/L pH 10,0; 2-cetoglutarato 16 mmol/L, NADH 300 a 350 $\mu\text{mol/L}$, azida sódica 30,8 mmol/L e surfactante.

2. [R2] - Reagente 2 - Armazenar entre 2 - 8 °C.

Contém Tampão 382 mmol/L, pH 8,0, Urease ≥ 50000 U/L, GLDH ≥ 3750 U/L, azida sódica 14,6 mmol/L, estabilizadores e surfactante.

3. [CAL] - Padrão - Armazenar entre 2 - 30 °C

Após o manuseio sugere-se armazenar bem vedado para evitar evaporação

Contém ureia 70 mg/dL e azida sódica 7,7 mmol/L

Os reagentes não abertos, quando armazenados nas condições indicadas, são estáveis até a data de expiração impressa no rótulo. Durante o manuseio os reagentes estão sujeitos a contaminações de natureza química e microbiana que podem provocar redução da estabilidade.

O produto tem estabilidade de 2 meses após aberto.

Rastreabilidade do sistema . O padrão é rastreável ao Standard Reference Material (SRM) 912 do National Institute of Standards and Technology (NIST).

Sugerimos utilizar calibradores proteicos para a calibração de sistemas automáticos. Os produtos da linha Calibra - Labtest têm concentrações de ureia rastreáveis ao SRM 912 do NIST.

Precauções e cuidados especiais

Não utilizar o Reagente de Trabalho quando sua absorbância medida contra a água em 340 nm for igual ou menor que 1,0 ou quando se mostrar turvo ou com sinais de contaminação.

Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação do reagente.

Os reagentes e o padrão contêm azida sódica que é tóxica. Deve-se tomar cuidado para evitar a ingestão e, no caso de contato com os olhos, deve-se lavar imediatamente com grande quantidade de água e procurar auxílio médico. A azida pode formar compostos altamente explosivos com tubulações de chumbo e cobre. Utilizar grandes volumes de água para descartar o reagente.

Material necessário e não fornecido

1. Fotômetro com cubeta termostaticada capaz de medir com exatidão a absorbância em 340 nm.
2. Pipetas para medir amostras e reagentes.
3. Cronômetro.

Influências pré-analíticas . A contaminação da água, vidraria e ambiente com amônia podem produzir resultados falsamente elevados. Evitar fumar próximo ao local das medições.

Amostra

Deve ser criado um Procedimento Operacional Padrão (POP) que estabeleça procedimentos adequados para coleta, preparação e armazenamento da amostra. Enfatizamos que os erros devidos à amostra podem ser muito maiores que os erros ocorridos durante o procedimento analítico.

Usar soro ou plasma (fluoreto, heparina, EDTA) e urina. Não usar anticoagulantes contendo amônia. A concentração de fluoreto na amostra não deve ser maior que 3 mg/mL pois o fluoreto em altas concentrações é inibidor da urease.

O uso do anticoagulante Glistab (Labtest Ref.: 29) permite a coleta de uma só amostra para as dosagens de ureia, glicose e creatinina.

O analito é estável no soro ou plasma por 12 horas entre 15 - 25 °C e 3 dias entre 2 - 8 °C. Não utilizar amostras mostrando sinais de contaminação microbiana.

A urina de 24 horas deve ser colhida em frasco contendo 2,0 mL de HCl a 50 % (v/v) e centrifugada antes de usar.

Como nenhum teste conhecido pode assegurar que amostras de sangue não transmitem infecções, todas elas devem ser consideradas como potencialmente infectantes. Portanto, ao manuseá-las devem-se seguir as normas estabelecidas para biossegurança.

Para descartar os reagentes e o material biológico sugerimos aplicar as normas locais, estaduais ou federais de proteção ambiental.

Interferências

Valores de bilirrubina até 20 mg/dL, hemoglobina até 300 mg/dL e triglicérides até 1800 mg/dL não produzem interferências significativas.

Para avaliar a concentração aproximada da hemoglobina em uma amostra hemolisada pode-se proceder do seguinte modo: diluir 0,05 mL da amostra em 2,0 mL de NaCl 150 mmol/L (0,85 %) e medir a absorbância em 405 ou 415 nm, acertando o zero com água deionizada ou destilada.

$$\text{Hemoglobina (mg/dL)} \cong \text{Absorbância}_{405} \times 601$$

$$\text{Hemoglobina (mg/dL)} \cong \text{Absorbância}_{415} \times 467$$

Preparo do reagente de trabalho . O conjunto de um frasco de Reagente 1 e um frasco de Reagente 2 permite preparar o Reagente de Trabalho. Transferir o conteúdo de um frasco de Reagente 2 para um frasco de Reagente 1 e homogeneizar por inversão. Anotar a data de expiração.

Estável 2 dias entre 15 - 25 °C e 28 dias entre 2 - 8 °C quando não houver contaminação química ou microbiana. Identificar o frasco do Reagente de Trabalho para evitar confusão com outros frascos do Reagente 1.

Para preservar o desempenho, o reagente deve permanecer fora da geladeira somente o tempo necessário para se obter o volume a ser utilizado. Evitar exposição à luz solar direta.

Opcionalmente, pode-se preparar menor volume do Reagente de Trabalho utilizando a proporção de 4 (quatro) volumes do Reagente 1 e 1 (um) volume do Reagente 2.

O Reagente de Trabalho contém tampão 76 mmol/L; pH 8,0; NADH 240 μmol/L; urease ≥10000 U/L; glutamato desidrogenase ≥750 U/L; 2-cetoglutarato 12,8 mmol/L e azida sódica 27,5 mmol/L.

Procedimento

Ver precauções e cuidados especiais.

Para a dosagem de ureia na urina, diluir a amostra 1:50 (0,1 mL de urina + 4,9 mL de água destilada ou deionizada). Multiplicar o resultado obtido por 50.

1. Ajustar a temperatura do fotômetro para $37 \pm 0,2$ °C e o comprimento de onda em 340 nm. Acertar o zero com água deionizada.
2. Em um tubo rotulado "Teste" ou "Padrão" colocar 1,0 mL do Reagente de Trabalho e incubar à temperatura de trabalho durante 1 minuto.
3. Adicionar 0,01 mL de Amostra ou Padrão, misturar e transferir imediatamente para cubeta termostaticada a $37 \pm 0,2$ °C.
4. Disparar o cronômetro e medir a absorbância aos 30 e 90 segundos.
5. Usar a diferença de absorbância (ΔA) entre os dois tempos ($A_{30} - A_{90}$) para calcular os resultados.

O procedimento sugerido para a medição é adequado para fotômetros cujo volume mínimo de solução para leitura é igual ou menor que 1,0 mL. Deve ser feita uma verificação da necessidade de ajuste do volume para o fotômetro utilizado. Os volumes de amostra e reagente podem ser modificados proporcionalmente, mantendo-se a relação amostra/reagente 1:101, sem prejuízo para o desempenho do teste e o procedimento de cálculos se mantém inalterado. Em caso de redução dos volumes é fundamental que se observe o volume mínimo necessário para a leitura fotométrica. Volumes da amostra menores que 0,01 mL são críticos em aplicações manuais e devem ser usados com cautela porque aumentam a imprecisão da medição.

Cálculos

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

Exemplo

$$\begin{aligned} A_{30} \text{ Teste} &= 1,780 & A_{30} \text{ Padrão} &= 1,710 \\ A_{90} \text{ Teste} &= 1,710 & A_{90} \text{ Padrão} &= 1,596 \\ \Delta A \text{ Teste} &= 1,780 - 1,710 & \Delta A \text{ Padrão} &= 1,710 - 1,596 \\ \Delta A \text{ Teste} &= 0,070 & \Delta A \text{ Padrão} &= 0,114 \end{aligned}$$

$$\text{Ureia (mg/dL)} = \frac{0,070}{0,114} \times 70 = 43$$

Devido a grande reprodutibilidade que pode ser obtida com a metodologia, pode-se utilizar o método do Fator de Calibração.

$$\text{Fator de Calibração} = \frac{70}{\Delta A \text{ Padrão}}$$

$$\text{Ureia (mg/dL)} = \Delta A \text{ Teste} \times \text{Fator de Calibração}$$

Exemplo

$$\text{Fator de Calibração} = \frac{70}{0,114} = 614$$

$$\text{Ureia (mg/dL)} = 0,070 \times 614 = 43$$

$$\text{Ureia em urina (mg/24 horas)} = \frac{\text{mg/dL} \times \text{volume (mL)}}{100}$$

Conversão da Ureia na urina para g/24h:

$$\text{Ureia (g/24 horas)} = \frac{\text{Ureia (mg/24 horas)}}{1000}$$

Calibração

O padrão é rastreável ao Standard Reference Material (SRM) 912 do National Institute of Standards and Technology (NIST).

Calibrações Manuais

Obter semanalmente o fator de calibração.

Obter o fator de calibração ao usar novo lote de reagentes ou quando o controle interno da qualidade indicar.

Sistemas Automáticos

Branco de reagentes: água ou solução de NaCl 150 mmol/L (0,85 %); Padrões: usar calibradores proteicos. As concentrações de ureia nos produtos da linha Calibra - Labtest são rastreáveis ao SRM 912 do NIST.

Intervalo de Calibrações

Deve-se recalibrar o sistema semanalmente e nas seguintes situações:
Calibração de 2 ou 3 pontos ao mudar de lote;
Calibração de 2 ou 3 pontos quando o controle interno da qualidade indicar.

Linearidade

O resultado da medição é linear até 300 mg/dL. Para valores maiores, diluir a amostra com NaCl 150 mmol/L (0,85 %), realizar nova medição e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

Controle interno da qualidade . O laboratório deve manter um programa de controle interno da qualidade que defina claramente os regulamentos aplicáveis, objetivos, procedimentos, critérios para especificações da qualidade e limites de tolerância, ações corretivas e registro das atividades. Materiais de controle devem ser utilizados para avaliar a imprecisão e desvios da calibração. Sugere-se que as especificações para o coeficiente de variação e o erro total sejam baseadas nos componentes da Variação Biológica (VB)^{4,6}.

Intervalo de referência . Os intervalos devem ser usados apenas como orientação. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça, na população atendida, seus próprios intervalos de referência.

Soro ou Plasma

Crianças e Adolescentes ⁷	
Idade	mg/dL
1 dia a 12 meses	2 a 34
1 a 13 anos	8 a 36

Soro ou Plasma

Idade	mg/dL
Adultos	15 a 45

Urina (Todas as Idades): 26 a 43 g/24 horas

Conversão: Unidades Convencionais (mg/dL) x 0,166 = Unidades SI (mmol/L)

Características do desempenho⁸

Estudos de Comparação de Métodos

O método proposto foi comparado com método utilizando tecnologia similar, sendo obtidos os seguintes resultados:

	Método Comparativo	Método Labtest
Número de amostras		20
Equação da regressão	Método Labtest (U/L) = 0,994 x Comparativo + 2,24	
Coefficiente de correlação	0,999	

Utilizando a equação da regressão, o erro sistemático (bias) foi igual a 5,25% e 1,41% para as concentrações de 38 mg/dL e 109 mg/L, respectivamente. Os resultados do estudo comparativo atendem à especificação desejável para Erro Sistemático ($\leq 5,57\%$) baseada nos componentes da VB⁴.

Estudos de precisão . Os estudos de precisão foram realizados utilizando amostras com concentração igual a 31 mg/dL e 106 mg/dL de ureia.

Repetitividade - imprecisão intraensaio

	N	Média	DP	CV (%)
Amostra 1	20	31	0,98	2,74
Amostra 2	20	106	1,22	1,12

Reprodutibilidade - imprecisão total

	N	Média	DP	CV (%)
Amostra 1	20	31	1,07	3,30
Amostra 2	20	106	1,62	1,49

A especificação desejável para a Imprecisão Total ($\leq 6,05\%$) baseada nos componentes da VB é atendida para as duas amostras avaliadas⁴. O erro total (erro aleatório + erro sistemático) estimado em um nível de decisão igual a 38 mg/dL é 4,1 mg/dL ou 10,87 % e em um nível de decisão igual a 109 mg/dL é 4,2 mg/dL ou 3,87 %. O resultado indica que o método atende à especificação desejável para Erro Total ($\leq 15,55\%$) baseada nos componentes da VB⁴.

Sensibilidade metodológica . Utilizando-se a absorbância do padrão como parâmetro, verificou-se que a sensibilidade fotométrica é 0,64 mg/dL, correspondendo a uma diferença de absorbância igual a 0,001.

Efeitos da diluição da matriz . Uma amostra com valor igual a 270 mg/dL foi utilizada para avaliar a resposta do sistema nas diluições da matriz com solução de NaCl 150 mmol/L (0,85%). Usando fatores de diluição que variaram entre 2 e 8 foi encontrada recuperação média de 108,6%. O erro sistemático médio (8,6%) atende à especificação desejável para Erro Total (15,55%) baseada nos componentes da VB⁴.

Significado clínico . A ureia se eleva fisiologicamente devido a dieta hiperproteica ou com a idade. Sua diminuição ocorre na gravidez normal e nos indivíduos em dietas com baixo valor proteico e alto conteúdo de carboidratos. Elevações da ureia ocorrem também por catabolismo elevado (febre, septicemia) e hemorragia interna.

A diminuição da ureia, que não tem expressão clínica, pode ocorrer também na soroterapia com carboidratos devido a problemas de diluição, redução do catabolismo proteico e aumento da diurese.

Elevações da ureia por defeitos de excreção se devem a causas pré-renais (insuficiência cardíaca congestiva), causas renais (nefrites, pielonefrites e insuficiência renal aguda ou crônica). As causas pós-renais ocorrem nas obstruções das vias urinárias (cálculos, carcinomas ou pólipos).

Observações

1. A limpeza e secagem adequadas do material utilizado são fatores fundamentais para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.

2. O laboratório clínico tem como objetivo fornecer resultados exatos e precisos. A utilização de água de qualidade inadequada é uma causa potencial de erros analíticos. A água deionizada ou destilada utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes, usar nas medições e para uso no enxágue final da vidraria, deve ter resistividade ≥ 1 megaohm.cm ou condutividade ≤ 1 microsiemens/cm e concentração de silicatos $< 0,1$ mg/L. Quando a coluna deionizadora está com sua capacidade saturada ocorre produção de água alcalina com liberação de vários íons, silicatos e substâncias com grande poder de oxidação ou redução que deterioram os reagentes em poucos dias ou mesmo horas, alterando os resultados de modo imprevisível. Assim, é fundamental estabelecer um programa de controle da qualidade da água.

3. Para uma revisão das fontes fisiopatológicas e medicamentosas de interferência nos resultados e na metodologia sugere-se consultar www.fxol.org/.

Referências

1. Bergmeyer HU. Methods of Enzymatic Analysis, vol 8, 3rd ed, Deerfield Beach: Verlag Chemie, 1985; 444-49.
2. Hallet CJ, Cook JGM. Clin Chim Acta 1971;35:37.
3. Tonks DB. Quality Control in Clinical Laboratories, Warner-Chilcott, Laboratories, Diagnostics Reagents Division, Scarborough, Canada, 1972.
4. Desirable Biological Variation Database specifications. Disponível em: <https://www.westgard.com/biodatabase1.htm> (acesso em 10/2021).
5. Westgard JO, Barry PL, Hunt MR, Groth T. Clin Chem 1981;27:493-501.
6. Basques JC. Especificações da Qualidade Analítica. Labtest Diagnóstica 2005.
7. Soldin SJ, Brugnara C, Wong EC: Pediatric Reference Ranges, 5th ed, Washington: AACC Press, 2005:195-196.
8. Labtest: Dados de arquivo.

Apresentação

Produto	Referência	Conteúdo
Uréia UV Liquiform	104-4/50	R11 4 x 40 mL
		R12 4 x 10 mL
		CAL 1 x 5 mL
	104-2/250	R11 2 x 200 mL
		R12 2 x 50 mL
		CAL 1 x 5 mL
Uréia UV Liquiform Labmax 560/400	104-4/44	R11 4 x 35 mL
		R12 4 x 9 mL
		CAL 1 x 5 mL

Para informações sobre outras apresentações comerciais consulte o site www.labtest.com.br ou entre em contato com o SAC.

O número de testes para sistemas automáticos depende dos parâmetros programados.

Consulte disponibilidade de aplicações com o SAC.

Informações ao consumidor

[Termos e Condições de Garantia]

A **Labtest Diagnóstica** garante o desempenho deste produto dentro das especificações até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que os cuidados de utilização e armazenamento indicados nos rótulos e nestas instruções sejam seguidos corretamente.

Labtest Diagnóstica S.A.

CNPJ: 16.516.296 / 0001 - 38

Av. Paulo Ferreira da Costa, 600 - Vista Alegre - CEP 33.240-152

Lagoa Santa - Minas Gerais Brasil - www.labtest.com.br

Serviço de Apoio ao Cliente | 0800 031 34 11 (Ligação Gratuita)
e-mail: sac@labtest.com.br

Edição: Julho, 1994

Revisão: Dezembro, 2021

Ref.: 280122(02)

Copyright by Labtest Diagnóstica S.A.
Reprodução sob prévia autorização

Símbolos utilizados com produtos diagnósticos in vitro

Símbolos usados con productos diagnósticos in vitro

Symbols used with ivd devices

	Conteúdo suficiente para < n > testes Contenido suficiente para < n > tests Contains sufficient for < n > tests		Risco biológico Riesgo biológico Biological risk
	Data limite de utilização (aaaa-mm-dd ou mm/aaaa) Estable hasta (aaaa-mm-dd o mm/aaaa) Use by (yyyy-mm-dd or mm/yyyy)		Marca CE Marcado CE CE Mark
	Material Calibrador Material Calibrador Calibrator Material		Tóxico Tóxico Poison
	Material Calibrador Material Calibrador Calibrator Material		Reagente Reactivo Reagent
	Limite de temperatura (conservar a) Temperatura limite (conservar a) Temperature limitation (store at)		Fabricado por Elaborado por Manufactured by
	Representante Autorizado na Comunidade Europeia Representante autorizado en la Comunidad Europea Authorized Representative in the European Community		Número do lote Denominación de lote Batch code
	Consultar instruções de uso Consultar instrucciones de uso Consult instructions for use		Controle Control Control
	Número do catálogo Número de catálogo Catalog Number		Controle negativo Control negativo Negative control
	Adições ou alterações significativas Cambios o suplementos significativos Significant additions or changes		Controle positivo Control positivo Positive control
	Produto diagnóstico in vitro Dispositivo de diagnóstico in vitro In vitro diagnostic device		Controle Control Control
	Liofilizado Liofilizado Lyophilized		Corrosivo Corrosivo Corrosive
	Período após abertura Período post-abertura Period after-opening		Uso veterinário Uso veterinario Veterinary use
	Instalar até Instalar hasta Install before		

Ref.: 140214 |