

### FINALIDADE

Sistema enzimático para dosagem da ureia no soro, plasma e urina.

**Somente para uso diagnóstico *in vitro*.**

### PRINCÍPIO

Determinação enzimática da ureia, de acordo com a seguinte reação:



Em meio alcalino, na presença de salicilato, Nitroprussiato de Sódio e hipoclorito, os íons amônios reagem dando origem a um composto cromógeno azul esverdeado. A intensidade da cor formada é diretamente proporcional à concentração da ureia na amostra analisada.

### PARTICULARIDADES DO SISTEMA

**Ureia 500 Doles** resume-se a 3 pipetagens e um tempo total de 10 minutos, sendo crítica apenas a pipetagem do soro por se tratar de um teste quantitativo. A urease apresenta-se pronta para uso.

### METODOLOGIA

Urease modificada.

### REAGENTES

**Urease:** cada frasco contém um mínimo de 6.000 U.I. de Urease e estabilizantes em solução de Glicerol 0,5M.

**Reagente 1:** mistura de Salicilato de Sódio 60mmol, Nitroprussiato de Sódio 3,4mmol e EDTA dissódico 1,35mmol, sob forma de pó.

**Reagente 2:** contém Hipoclorito de Sódio 0,120mol/L e Hidróxido de Sódio 3,75mol/L.

**Solução padrão 80mg/dL:** solução de Ureia 80mg/dL

### APRESENTAÇÃO

Urease	1 x	28mL
Reagente 1	1 x	5,5g
Reagente 2	1 x	20mL
Solução padrão 80mg/dL	1 x	3mL

### NÚMERO DE TESTES

250 testes / 20µL de soro

500 testes / 10µL de soro

### EQUIPAMENTOS E MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

- Espectrofotômetro ou fotocolorímetro capaz de medir a absorvância em 600nm ou filtro laranja.
- Banho maria (37°C).
- Tubos de ensaio.
- Pipetas graduadas.
- Pipeta semiautomática de 20µL.
- Ponteiras descartáveis.
- Balões volumétricos de 500mL.
- Frasco de vidro, cor âmbar, com capacidade volumétrica de 500mL para o reagente 1.
- Frasco plástico com capacidade volumétrica de 500mL para o reagente 2.
- Rótulos.
- Água destilada ou deionizada.
- Cronômetro.

### ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

**Urease:** a solução de Urease é estável por 2 anos se mantida sob refrigeração (2-8°C).

**Reagente 1:** na forma original, armazenar à temperatura de 2-8°C. Estável até a data de vencimento indicada no rótulo do frasco obedecidas as condições de armazenamento. Após reconstituído, armazenar em frasco de vidro âmbar, ao abrigo da luz. Estável por 2 anos, à temperatura 2-8°C.

**Reagente 2:** na forma concentrada, armazenar à temperatura de 2-8°C. Estável até a data de vencimento indicada no rótulo do frasco obedecidas as condições de armazenamento. Após reconstituído, armazenar em frasco plástico ao abrigo da luz. Estável por 2 anos, à temperatura 2-8°C.

**Solução padrão 80mg/dL:** armazenar à temperatura de 2-8°C. Manter o frasco bem vedado para evitar evaporação. Estável até a data de vencimento indicada no rótulo obedecidas as condições de armazenamento.

### CUIDADOS E PRECAUÇÕES COM O USO DOS REAGENTES

Todos os reagentes são somente para **uso diagnóstico *in vitro***. Seu manuseio deve ser cuidadoso, evitando-se contato com pele e mucosas. Os reagentes contêm material cáustico. Ocorrendo contaminação acidental, lavar a área afetada em água corrente. O descarte do material utilizado deverá ser feito obedecendo-se aos critérios de biossegurança estabelecidos pelo laboratório, de acordo com as normas locais, estaduais ou federais.

Observar ainda a simbologia constante nos rótulos do produto:



Corrosivo



Irritante

### AMOSTRA

Soro, plasma (EDTA, heparina), urina e demais líquidos biológicos. A ureia permanece estável por 3 dias, à temperatura de 2-8°C ou por 3 meses à temperatura de 10°C negativos.

- Não utilizar plasma colhido com fluoretos que são potentes inibidores de urease.
- Com exceção dos sais de amônio, os demais anticoagulantes não interferem.
- Traços de amônia no vasilhame utilizado durante a manipulação é fator que interfere, decisivamente, nos resultados.
- Hemólise moderada e bilirrubina até 20mg/dL não produzem alterações no resultado da reação.
- Na presença de soros lipêmicos fazer um **branco** utilizando 20µL do soro e os demais reagentes omitindo-se a **urease**.
- Como a ureia excretada na urina é susceptível de decomposição bacteriana, as amostras se mantidas à temperatura ambiente (20-30°C) devem ser analisadas dentro de poucas horas. Não sendo possível tal procedimento, refrigerar entre 2 e 8°C.

**Todas as amostras biológicas devem ser consideradas como potencialmente infectantes.**



## PROCEDIMENTO TÉCNICO

### Preparo do reagente de uso:

**Reagente 1:** transferir o conteúdo do frasco para um balão volumétrico de 500mL e completar o volume até a marca com água destilada ou deionizada. Armazenar em frasco de vidro, cor âmbar, ao abrigo da luz, à temperatura de 2-8°C. Permanece estável por 2 anos após sua reconstituição.

**Reagente 2:** transferir o conteúdo do frasco para um balão volumétrico de 500mL e completar o volume, até a marca, com água destilada ou deionizada. Armazenar em frasco plástico, ao abrigo da luz, à temperatura de 2-8°C. Permanece estável por 2 anos após sua reconstituição.

Identificar 3 tubos de ensaio com **B (branco)**, **T (teste)** e **P (padrão)**.

### Proceder como segue:

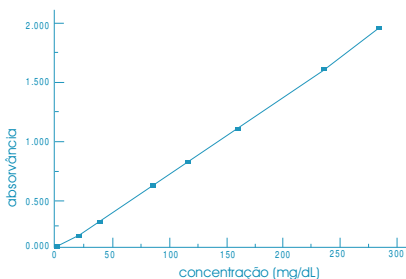
	<b>B</b>	<b>T</b>	<b>P</b>
<b>Reagente 1</b>	2,0mL	2,0 mL	2,0 mL
<b>Urease</b>	2 gotas	2 gotas	2 gotas
<b>Solução padrão</b>	-	-	20µL
<b>Amostra</b>	-	20µL	-
Incubar os tubos a 37°C, por 5 minutos			
<b>Reagente 2</b> (solução de uso)	2,0mL	2,0 mL	2,0 mL

Homogeneizar e incubar a 37°C, durante 5 minutos. Ler as absorvâncias em espectrofotômetro ou fotocolorímetro, em **600nm** ou **filtro laranja**, acertando o **zero** com o **branco**. A cor final permanece estável por 60 minutos.

## URINA

- Diluir a urina 1:50 (1mL de urina + 49mL de água destilada ou deionizada).
- Proceder de maneira idêntica ao soro, com a seguinte ressalva: constatada a presença de amônia, fazer um **branco** de urina (**B-U**), de forma semelhante ao teste, omitindo-se a **urease**.
- Proceder às leituras de **B-U** e **P** contra o **branco B**.

## CURVA DE CALIBRAÇÃO



Padrão	Absorvância	Conc. (mg/dL)
1	0.000	0
2	0.138	20
3	0.275	40
4	0.550	80
5	0.820	120
6	1.110	160
7	1.640	240
8	1.923	280

**Obs.: Não utilizar esta curva para determinar o resultado de seu ensaio.**

- A curva de calibração é a representação gráfica da relação entre os valores das absorvâncias com os valores das concentrações de um conjunto de soluções padrão. São necessários três passos para confeccioná-la: (1) preparo das soluções padrão; (2) medição dos valores de absorvância das soluções padrão, de acordo com o especificado no procedimento técnico da presente instrução de uso, e (3) montagem de um gráfico, em papel especial, linear, onde são relacionados os valores de absorvância com os de concentração, conforme demonstrado na figura acima.

As dosagens para montagem da curva foram feitas em um espectrofotômetro "Ultrospec III", Pharmacia Biotec, comprimento de onda de 600nm e cubetas com passagem de luz de 10mm.

- A curva de calibração demonstra a linearidade da reação até uma determinada concentração, na qual pode ser determinado um fator de calibração (F), de acordo com a Lei de Beer.
- A reação é linear entre 0 e 280mg/dL (ver curva acima). Obtendo-se valores mais elevados, dilui-se a amostra com solução fisiológica e procede-se à nova dosagem. Multiplicar o valor encontrado pelo fator de diluição.**
- O kit de Ureia 500 Doles possui padrão no intervalo de linearidade conforme explicitado na curva de calibração. O laboratório deve realizar o ensaio com o padrão que acompanha o kit e calcular seu fator de calibração (F), a exemplo do demonstrado nos cálculos abaixo.**
- O fator deve ser refeito periodicamente e a cada lote do produto.**
- As soluções padrão utilizadas foram ajustadas em seus valores com os recursos do "Sistema Cobas Mira plus" e com "Calibrador Roche" lote T1237A.

## CÁLCULOS

$$\text{Ureia (mg/dL)} = \frac{\text{absorvância teste}}{\text{absorvância padrão}} \times 80$$

*Exemplo:*

*Leitura:*

*Padrão: 0,550*

*Teste: 0,200*

$$\text{Ureia (mg/dL)} = \frac{0,200}{0,550} \times 80 = 29,09$$

Como a reação corada segue estritamente a lei de Beer, basta a determinação de um **fator (F)** para cálculo dos resultados.

$$\text{Fator (F)} = \frac{80}{\text{absorvância padrão}}$$

$$\text{Ureia (mg/dL)} = \text{absorvância do teste} \times F$$

Para a obtenção do fator, recomenda-se dosar em triplicata o padrão, ler as absorvâncias e tirar a média aritmética das mesmas.

*Exemplo:*

*Leituras:*

*Padrão: 0,548; 0,550; 0,552*

$$\text{Média aritmética} = \frac{0,548 + 0,550 + 0,552}{3} = 0,550$$

$$\text{Fator (F)} = \frac{80}{0,550} = 145,45$$

*Leitura do teste: 0,200*

$$\text{Ureia (mg/dL)} = 0,200 \times 145,45 = 29,09$$

## URINA

$$\text{Ureia/urina (mg/dL)} = \frac{T-BU}{P} \times 80 \times 50 \quad (50 \text{ fator de diluição})$$

*Exemplo:*

*Volume urinário 24hs: 1.400mL*

*Leituras:*

*T = 0,500*

*BU = 0,180*

*P = 0,550*

$$\text{Ureia/urina (mg/dL)} = \frac{0,500 - 0,180 \times 80 \times 50}{0,550} = 2.327$$

$$\text{Ureia/urina (mg/24hs)} = \frac{\text{ureia (mg/dL)} \times \text{volume urinário 24hs/mL}}{100}$$



$$\text{Ureia/urina (mg/24hs)} = \frac{2.327 \times 1.400}{100} = 32.578$$

Para expressar o resultado em gramas/24hs, divida o resultado encontrado por 1.000.

**Exemplo:**

$$\text{Ureia/urina (g/24hs)} = \frac{\text{ureia (mg/24hs)}}{1.000}$$

$$\text{Ureia/urina (g/24hs)} = \frac{32.578}{1.000} = 32,578$$

### EXPRESSÃO DOS RESULTADOS EM UNIDADES S.I.

ureia (mmol/L) = uréia (mg/dL) x 0,166

### LIMITAÇÕES DO SISTEMA

- Para se obter ótimo desempenho do sistema, é necessário que o procedimento técnico seja rigorosamente seguido conforme instruções de uso. Qualquer alteração poderá levar a resultados errôneos.
- A complementação diagnóstica de pacientes nefropatas poderá ser melhor avaliada através do perfil metabólico se portador de nefrolitíase.

### CONTROLE DA QUALIDADE DO SISTEMA

1. A limpeza e a secagem adequada do material a ser utilizado são de fundamental importância para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
2. A água utilizada na limpeza do material, no preparo dos reagentes e na dosagem, deve ser de boa qualidade.
3. Colunas deionizadoras saturadas liberam íons diversos, amins e agentes oxidantes, que deterioram os reagentes.
4. As pipetagens devem ser precisas.
5. O nível da água do banho maria deve ser superior ao nível dos reagentes nos tubos de ensaio. A temperatura (37°C) deve ser rigorosamente observada.
6. O uso de soro controle de referência deve ser uma prática rotineira do laboratório. Recomenda-se utilizar um soro controle com valor na faixa de normalidade (**soro controle N - Doles**) e outro soro controle de valor elevado (**soro controle P - Doles**).

### VALORES DE REFERÊNCIA

É recomendado que cada laboratório estabeleça sua própria faixa de valores de referência na população atendida.

Como orientação, sugerimos os seguintes valores:

Soro	
Adultos	15 - 40mg/dL
Crianças	10 - 38mg/dL
Recém-nascidos	6 - 25mg/dL

Urina 26 - 43g/volume de 24hs

### SIGNIFICADO CLÍNICO

A ureia, principal produto final do metabolismo proteico, é responsável por 80% do nitrogênio não proteico excretado na urina em condições normais. O aumento do teor de ureia no sangue é classificado em 3 fases: pré-renal, renal e pós-renal. Na fase pré-renal destacam-se: choque traumático (traumatismo craniano); choque hemorrágico (hemorragia pós-parto, úlcera perfurada); desidratação aguda ou perda de eletrólitos (acidose diabética, doença de Addison); descompensação cardíaca; infecção e toxemia.

A elevação da taxa de ureia de causa renal é mais observada nas glomerulonefrites, nefrosclerose, rins policísticos e naquelas condições em que há necrose tubular.

A uremia pós-renal engloba a obstrução renal por cálculos ou compressão, tumores compressivos da bexiga e obstruções de origem prostática.

A taxa de ureia encontra-se reduzida, principalmente, na insuficiência hepática aguda e na inanição.

### CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Foram realizados 43 testes em amostras cujo teor de ureia se situava no intervalo de 14 a 136mg/dL. Esses ensaios foram realizados em paralelo com uma metodologia de referência. A comparação do kit de Ureia 500 Doles (Y) com a metodologia mencionada (X) deu origem à seguinte equação de regressão linear:  $Y = 4,72 + 1,004X$ , sendo o coeficiente de correlação 0,99.

Testes mostram uma recuperação de  $97,8 \pm 2,4\%$ .

O erro da média foi de 1,07%.

**Repetitividade:** foram realizadas 20 dosagens sucessivas, com 2 amostras, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2
Concentração (mg/dL)	34,97	119,93
Desvio padrão	0,50	1,31
Coefficiente de variação (%)	1,43	1,09

**Reprodutibilidade:** foram realizadas 20 dosagens, durante 20 dias consecutivos, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2
Concentração (mg/dL)	43,04	133,94
Desvio padrão	0,72	1,63
Coefficiente de variação (%)	1,67	1,21

**Especificidade:** a presente metodologia é específica para determinação de ureia, reagindo com amônia apenas se a vidraria utilizada estiver contaminada pela substância.

**Sensibilidade:** a absorvância encontrada, de 0,0055, corresponde a 1mg/dL de ureia, quando realizados os testes em espectrofotômetro, a 600nm. A sensibilidade do sistema está diretamente relacionada com a do aparelho utilizado no laboratório.

**Diluição da matriz:** estudos sucessivos de diluição da matriz mostraram que não há interferência na sensibilidade diagnóstica da presente metodologia de urease modificada.

**Substâncias interferentes:** não utilizar plasma colhido com fluoretos, que são potentes inibidores de urease. Demais anticoagulantes não interferem nos resultados, com exceção dos sais de amônio.

Traços de amônia no vasilhame utilizado interferem decisivamente na reação.

Hemólise moderada e bilirrubina até 20mg/dL não interferem na reação.

Na presença de soros lipêmicos, fazer um **branco** com 20mL do soro e os demais reagentes utilizados, omitindo-se a **urease**.

Certas drogas podem interferir nos níveis de ureia para controle de tal interferência, recomenda-se que o paciente seja questionado quanto ao uso de medicamentos.



## **BIBLIOGRAFIA CONSULTADA**

- Searcy, R.L. et. al.: *Am. J. med. techn.* 27D:255; 1961.
- Tabacco, Alessandro et al.: *Clinical chemistry*, vol.25 nº 2,336-337; 1979.
- Machado, Milton, Rev. Bras.: *Pat. clin.* vol.21, nº 4, 119-122; 1985.
- Pesce, J.; Kaplan,L.: *Methods in clinical chemistry*, 24-25,1987.
- Jacobs, D.S; Kasten, B.L.: Demott; W.L.R.; Wolfson, w1, *Laboratory test handbook*; 2ªed, 349-351;1990.
- Chernecky, c.c.; Krech, RL.; Berger, B.I.: *Laboratory tests and diagnostic procedures*; 343; 854-855; 857; 861; 868; 943-945;1993.
- Tibúrcio, H.M.: *Controle interno da qualidade analítica*, 1ªed. março/1995.
- Henry, J.B.: *Clinical diagnosis and management by laboratory methods*, 19ª ed, 162-163,1996.
- Doles: dados de arquivo.

## **TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO**

As garantias do fabricante ao consumidor seguem estritamente as relacionadas na Lei nº 8.078, de 11 de setembro de 1.990 - **Código de Defesa do Consumidor**. Todos os reagentes que compõem este sistema para diagnóstico são garantidos na sua performance, reprodutibilidade e qualidade até a data de vencimento dos mesmos, se obedecidas as condições abaixo:

- 1.O usuário do sistema seguir, rigorosamente, o procedimento técnico.
- 2.As condições de armazenamento deverão estar de acordo com o estabelecido nas instruções de uso.
- 3.Os materiais necessários e não fornecidos deverão estar em boas condições técnicas.

**Todos os produtos que apresentarem problemas técnicos comprovados serão substituídos, sem ônus para o consumidor.**

Doles Reagentes e Equipamentos para Laboratórios Ltda.

CNPJ: 01.085.513/0001-05

Rodovia BR 153, Km 1273, Lt.07, Chácara Retiro

CEP: 74001-970 Goiânia - GO - Brasil

Caixa Postal 1051

e-mail: doles@doles.com.br

M.S.: nº 10231810007

Revisão: 14 (06/2009)

## **NBR ISO 9001**

**Sistema da Qualidade  
certificado desde 1999**

