

Instruções de Uso



Uréia Cepa - Enzimática

Método

Urease Indofenol – Enzimático

Finalidade

Kit para determinação da uréia em amostras de soro, plasma e urina.

Princípio do método

A determinação da uréia por métodos enzimáticos combina a elevada especificidade de ação das enzimas com a simplicidade operacional envolvida. No presente método, a uréia da amostra é hidrolisada pela enzima urease com produção de gás carbônico e íons amônio. Estes em presença de salicilato, hipoclorito e nitroprussiato (reação de Berthelot modificada) produzem o corante verde de indofenol o qual possui um máximo de absorção em 600 nm. A cor formada é proporcional à concentração de uréia presente.

Reagentes fornecidos

1. Tampão: Salicilato sódico 62 mmol/L, nitroprussiato de sódio 3,4 mmol/L, tampão fosfato 20 mmol/L, pH 6,9 (1 x 240 mL).
2. Urease: Urease - 500 U/mL (1 x 10 mL).
3. Reagente de Cor: Hipoclorito de sódio 7 mmol/L, hidróxido de sódio 150 mmol/L (1 x 250 mL).
4. Padrão: Uréia 50 mg/dL (1 x 3 mL).

Condições de uso e armazenagem

A data de validade aparece no rótulo da embalagem. Não usar reagentes cuja data de validade tenha expirado.

Todos os reagentes devem ser mantidos sob refrigeração na faixa de 2 a 8 °C. Manter ao abrigo da luz. Os reagentes devem permanecer fora do refrigerador somente o tempo necessário para as dosagens.

Insumos e equipamentos necessários não fornecidos

- Água destilada ou deionizada
- Banho-maria
- Cronômetro
- Espectrofotômetro
- Pipetas manuais ou automáticas
- Ponteiras descartáveis
- Vidraria

Precauções e cuidados especiais

- Somente para uso diagnóstico "in vitro".
- Não misturar ou trocar lotes de reagentes diferentes.
- Evitar contaminação microbiana dos reagentes e não utilizar reagentes que tenham sinais de contaminação ou precipitação.
- Caso haja contato com quaisquer reagentes lavar a área afetada com água em profusão. Em caso de ingestão de reagentes procurar auxílio médico imediato munidos desta instrução de uso.
- Utilizar equipamentos de proteção individual segundo normas de biossegurança.
- A água (destilada ou deionizada) utilizada na limpeza do material ou nos procedimentos deve ser recente e isenta de agentes contaminantes.
- Certificar-se das condições adequadas de funcionamento dos equipamentos de análise.
- O descarte do material utilizado deve ser feito segundo os critérios de biossegurança.
- Lavar as mãos após trabalhar com material potencialmente infeccioso.
- O Reagente nº 3 (Hidróxido) é cáustico. Evitar contato com a pele e mucosas.

Amostra biológica

- Soro, plasma e urina.

A uréia em soro ou plasma é estável durante 7 dias quando mantida entre 2 a 8 °C. Não usar anticoagulantes que contenham sais de amônio. Recomenda-se a utilização de heparina como anticoagulante.

A urina de 24 horas deve ser coletada em frasco contendo 2,0 mL de HCl a 50%.

Para a dosagem de amostras de urina, diluir as amostras recém colhidas 1:50 com água destilada. Multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição (50).

Todo o material biológico deve ser processado como sendo potencialmente contaminante. Usar luvas descartáveis durante a manipulação do material biológico. As amostras devem ser descartadas, após o uso, em recipientes específicos para este fim. Não dispensar em coletores de lixo comuns ou nas redes de água e esgoto.

Procedimento

Ler, cuidadosamente, as instruções desta bula.

Preparo dos reagentes:

Reagente enzimático de uso: verter o conteúdo do frasco de Reagente nº 2 (Urease) no frasco de Reagente nº 1 (Tampão) e homogeneizar bem. É recomendável a transferência de parte do homogeneizado para o frasco de reagente nº 2, com o objetivo de se obter a diluição completa do reagente contido no mesmo. Após homogeneizar, verter novamente o conteúdo no frasco nº 1 e rotular como **Reagente de Trabalho**. Este reagente é estável por 60 dias quando mantido entre 2 a 8 °C

obs.: Podem ser preparados volumes menores de reagente de trabalho, desde que respeitada a proporção de 1,0 mL de Urease + 24 mL de Tampão.

Dosagem em soro, plasma ou urina (diluída):

1. Permitir que reagentes e amostras atinjam a temperatura ambiente;
2. Pipetar em, diferentes tubos de ensaio, como a seguir:

	Branco	Amostra	Padrão
Amostra	-	10 µL	-
Padrão	-	-	10 µL
Reagente Enzimático Uso	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

3. Homogeneizar bem e incubar em banho-maria a 37 °C durante 5 minutos, ou 10 minutos à temperatura ambiente;
4. Pipetar

Reag. de Cor	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

5. Homogeneizar bem e incubar em banho-maria a 37 °C durante 5 minutos, ou 10 minutos à temperatura ambiente;
6. Determinar as absorbâncias do padrão e da amostra em 600 nm, acertando o zero com o branco. A cor formada é estável por 2 horas.

Cálculos

$$\text{Fator de Calibração} = \frac{50}{(\text{Abs. do Padrão})}$$

$$\text{Uréia (mg/dL)} = \text{Abs. da Amostra} \times \text{Fator de calibração}$$

$$\text{Uréia (mg/24h)} = \frac{(\text{mg/dL} \times \text{volume urinário 24 horas em Litros})}{100}$$

$$\text{Unidade SI: Uréia (mmol/l)} = \text{mg/dL} \times 0,166$$

Linearidade

A reação é linear até 300 mg/dL (50 mmol/L). Para valores acima de 300 mg/dL, diluir a amostra com solução de NaCl 0,85 % e repetir a dosagem. Multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição empregado.

Valores de referência

- **Soro ou Plasma:** 15 a 39 mg/dL*
- **Urina:** 26 a 43 mg/24 horas*

* Estes valores são dados apenas a título orientativo. É recomendável que cada laboratório estabeleça sua própria faixa de valores de referência.

Controle de qualidade

O laboratório deve ter como prática de rotina o uso de soros controle comerciais. Preferivelmente deve participar de programas de controle externo de qualidade, a exemplo daqueles oferecidos pela SBAC e SBPC.

Dados estatísticos de desempenho do teste

Recuperação: 103,2%.

Coeficiente de variação intra-ensaio (repetitividade): A realização de 20 determinações de uma mesma amostra com valor dentro da faixa de referência, mostrou um coeficiente de variação igual a 1,19 %. O mesmo procedimento para valores elevados mostrou um coeficiente de variação igual a 1,86%.

Coeficiente de variação inter-ensaio (reprodutibilidade): A realização de 20 determinações de uma mesma amostra com valor dentro da faixa de referência, mostrou um coeficiente de variação igual a 3,08 %. O mesmo procedimento para valores elevados mostrou um coeficiente de variação igual a 3,30%.

Especificidade analítica: A comparação com método similar validado (que também utiliza a metodologia da urease) demonstrou um coeficiente de correlação, r, igual a 0,991 a partir da análise de amostras aleatórias oriundas de pacientes de ambulatório. A equação de regressão obtida foi: $y = 1,015x - 1,37$.

Sensibilidade analítica: O limite de detecção do método é igual a 7 mg/dL.

Interferentes

Ácido ascórbico mesmo em concentrações elevadas (acima de 20 mg/dL), hemoglobina até 400 mg/dL, hiperlipemias e bilirrubina até 20 mg/dL não interferem.

Referências bibliográficas

- 1 BERGMEYER, H.U (Ed.) Methods of Enzymatic Analysis, AcademicPress, p.449, 1985.
- 2 SEARCY, R.L. et al Am. J. Med. Tech. 27:255, 1961

Apresentação

Número de testes: 250 - Volume dos reagentes 1,0 /1,0 mL - Volume de amostra 10 µL

Número de testes: 500 - Volume dos reagentes 0,5 /0,5 mL - Volume de amostra 5 µL

Automação

Os reativos podem ser utilizados em analisadores automáticos. Vide programação no verso ou solicite informações ao seu distribuidor.

Dados do fabricante

MBiolog Diagnósticos Ltda

Rua Gama, 337 – Vila Paris – Contagem – MG – CEP 32372-120

Resp. Técnico: Fabrício Galvão de Brito – CRF-MG 9587

SAC - Serviço de Atendimento ao Cliente

tel: (31) 3507 0707

e-mail: sac@mbiolog.com.br

REV.: 01/08

CALIBRATION MODE	CALIBRATOR - 2
REAGENT BLANK	REAG/DIL - 2
CLEANER	NO - 1
WAVELENGTH	600 nm - 5
DECIMAL POSITION	1 (mg/dL)
UNIT	12 (mg/dL)
ANALYSIS	
POST. DIL FACTOR	NO - SPACE
CONC. FACTOR	NO - SPACE
SAMPLE CYCLE	2
VOLUME	2 μ L
DILUTION NAME	H2O - 0
VOLUME	10 μ L
REAGENT CYCLE	1
VOLUME	85 μ L
START R1 CYCLE	12
VOLUME	85 μ L
CALCULATION	
SAMPLE LIMIT	NO - SPACE
REACTION DIRECTION	INCREASE - 1
CHECK	ON - 1
CONVERSION FACTOR	1
OFFSET / TEST RANGE LOW	0 / 0
HIGH	300 mg/dL
NORMAL RANGE LOW	10 mg/dL
HIGH	50 mg/dL
NUMBER OF STEPS	1
CALCULATION STEP A	ENDPOINT -1
READING FIRST	3
LAST	24
CALIBRATION	
CALIBRATION INTERVAL	ON REQUEST - 3
TIME	NO - SPACE
REAGENTE RANGE LOW	NO - SPACE
HIGH	NO - SPACE
BLANK RANGE LOW	-0,20 \AA
HIGH	0,20 \AA
STANDARD POS	IPU*
STD - 1	IPU**

IPU*: Insira a posição do calibrador no equipamento.
 IPU**: Insira a concentração do calibrador no equipamento.
 Pode-se utilizar o Padrão do kit (Valor do padrão: 50 mg/dL).
 Para "COBAS MIRA PLUS", substituir a opção "CALIBRATOR" por "SLOP AVG".

EXPRESS 550/PLUS®

TEST NAME: URÉIA TEST: UURE

TEST BAR CODE: IPU*				
TEST TYPE: Kinetic	CURVE TYPE: BLAN. LINEAR			
UNITS: mg/dL	Nº OF DECIMAL PLACE: 0			
PRIMARY WAVELENGHT: 600	SECONDARY WAVELENGHT:-			
READ TIME / INTERVAL: 60	SAMPLE BLANK: NO			
FACTOR:				
CALIBRATION INTERVAL: 180 h	Nº OF REPLICATES: 2			
Nº OF CALIBRATOR: IPU*				
LOW BLANK A LIMIT: -0,100	HIGH BLANK A LIMIT: 0,500			
LOW A LIMIT: 0	HIGH A LIMIT: 2,000			
LOW NORMAL: 10	HIGH NORMAL: 50			
LINEARITY LIMIT: 300	CURVE S.D. LIMIT: 10			
SAMPLE VOLUME: 3 μ L	TEST: URE			
SAMPLE DILUENTE BOTTLE TYPE: *	PREDILUTION RATIO: 1			
REAGENT DILUENTE BOTTLE TYPE:*				
REAGENT DILUENT: VOL. RAG. BD DIL LAG TIME BT				
REAGENT 1: 150	200 *			
REAGENT 2: 150	200 *			

IPU: Inserido Pelo Usuário
 *: Entre com o tipo de frasco utilizado. Plástico ou Vidro
 Pode-se utilizar o Padrão do kit (Valor do padrão: 50 mg/dL).

BIO 2000® & LABQUEST®

MODO	P.F	PI	50
WLI	620	UNDIDAD	mg/dL
WL2		DECIMALS	0
BLANK?	SIM	LIM LIN MIN	0
BLANK- AMOS - PAD?	NÃO/NÃO	LIM LIN MAX	300
CUB FLUXO ?	SIM	ABS REAT MIN	-0,01
TEMP?	37 °C	ABS REAT MAX	0,4
VOL ASP	800	ABS PAD MIN	0,1
RETARDO	3	ABS PAD MAX	0,5
PADRÃO	SIM	VR/VN MIN	15
PAD (QUANT)	ÚNICA	VR/VN MAX	39

Pode-se utilizar o Padrão do kit (Valor do padrão: 50 mg/dL).

TEMPERATURA	25 °C
VOLUME DA AMOSTRA	10 μ L
VOLUME DO REAGENTE	2000 μ L
CONCENTRACÃO DO PADRÃO	50 mg/dL
TIPO DE REAÇÃO	P.F / PADRÃO / BRANCO DE REAG.
UNIDADES	mg/dL
COMPRIMENTO DE ONDA	620 nm
INCLINAÇÃO DA REACÃO	CRESCENTE
LINEARIDADE	300 mg/dL
RET. VALOR DO BRANCO	NÃO
PRECISÃO DO RESULTADO	1 mg/dL
VOLUME DE ASPIRAÇÃO	1000 μ L

A opção "PADRÃO" pode ser substituída pela opção "FATOR". Porém, este deve ser calculado previamente. Pode-se utilizar o Padrão do kit (Valor do padrão: 50 mg/dL).

BTS-370®

TESTE	UREIA COL	OPÇÕES
UNIDADE	MG/DL	
MODO DE ANÁLISE	P.F.	VALOR LIMITE DE LINEARIDADE 300 MG/DL
CONSTITUINTE ASSOCIADO	IPU	VALOR LIMITE DE ABS. 0,2 A BRANCO
TIPO DE REAÇÃO	CRESC.	VALOR LIMITE DE BRANCO CINÉTICA 0,005 A/MIN
REPLICATAS DA AMOSTRA	1	LIMITE MÁXIMO DE FATOR 230
CALIBRADOR	IPU*	LIMITE MÍNIMO DE FATOR 150
REP. DE CALIBRADOR E BRANCO	1	LIMITE SUPERIOR REFERÊNCIA 50 MG/DL
NÚMERO DE CALIBRADORES	IPU*	LIMITE INFERIOR REFERÊNCIA 10 MG/DL
CALIBRADOR 1	IPU*	NÚMERO DE CONTROLES IPU
DECIMAS	0	TIPO DE CONTROLE IPU
LEITURA	MONO	REPLICATAS DO CONTROLE IPU
COMPRIMENTO DE ONDA PRINCIPAL	578 NM	VOLUME DE LAVAGEM 5 ML
VOLUME DA AMOSTRA	3 ML	
VOLUME DO REATIVO 1	300 ML	
VOLUME DO REATIVO 2	300 ML	
TEMPO DE INCUBAÇÃO 1	300 S	
TEMPO DE INCUBAÇÃO 2	300S	
TEMPO DE ESTABILIZAÇÃO	60 MIN	

Todos os equipamentos são marcas registradas de seus fabricantes

BTS-310®

LOCALIDAD	IPU*
NOMBRE TECNICA	URÉIA COLOR
UNIDADES	1
MODO DE CÁLCULO	PFE
MODO DE LECTURA	MONO
FILTRO REFERENCIA	-
FILTRO LECTURA	600
FATOR	-
TIEMPO ESTBILIDAD	1
TIEMPO INCUBACION	-
TIEMPO INTERVALO	-
NÚMERO DE INTERVALOS	-
VOLUME DE ASPIRAÇÃO	400
TIPO DE REACION	Crescente
ESTANDAR	50 (Padrão do Kit)
Nº ESTANDARTES	-
DUP. ESTANDARTES	-
DUP. MUESTRAS	-
ESCALAS ABS	-
CONC.	-
FACTOR DILUCION	-
TEMPERATURA	25°C

RA-50®