

Instruções de Uso

cepa

Uréia Cepa - Cinética UV

Método

Urease/GluDH - Cinético UV

Finalidade

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

Princípio do método

A uréia da amostra é hidrolisada pela enzima urease com produção de gás carbônico e íons amônio. Estes são captados por uma segunda enzima, a desidrogenase glutâmica, a qual, em presença de outros substratos, tais como o NADH2 e oxoglutarato, produz NAD+ e glutamato. A concentração catalítica é determinada a partir da velocidade de extinção do NADH medido espectrofotometricamente a 340 nm.

Reagentes fornecidos

1. Tampão: Tris 100 mmol/L, 2-oxoglutarato 5,6 mmol/L, urease >140 U/mL, desidrogenase glutâmica >140 U/mL, pH 8,0 (1 x 80 mL).
2. Coenzima: NADH 3,1 mmol/L, Azida sódica 9,5 g/L. NOCIVO. Não pipetar com a boca (1 x 20 mL).
3. Padrão: Uréia 50 mg/dL (1 x 1,5 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 diferentes lotes de reagentes.
- 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.

Amostra biológica

- Soro, plasma ou urina.
- A uréia em soro ou plasma é estável durante 7 dias quando mantida entre 2 a 8 °C. Não utilizar anticoagulantes que contenham sais de amônio. Utilizar apenas heparina como anticoagulante.
- A urina de 24 horas deve ser coletada em frasco contendo 2 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 esgoto.

Procedimento

Ler, cuidadosamente, as instruções desta bula

Preparo dos reagentes:

Reagente de Trabalho: Verter o conteúdo do frasco de Reagente nº 2 (Coenzima) no frasco de Reagente nº 1 (Tampão) e homogeneizar bem. É recomendável a transferência de parte do homogeneizado para o frasco nº2, com o objetivo de se obter a diluição completa do reagente contido no mesmo. Após homogeneizar, verter novamente o conteúdo no frasco nº 1. 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 Coenzima + 4,0 mL de Tampão.

Dosagem em soro, plasma ou urina (diluída):

1. Permitir que reagentes e amostras atinjam a temperatura ambiente;
2. Pré-aquecer o espectrofotômetro, o reagente de trabalho, a amostra e o padrão a 37°C;
3. Acertar o zero do espectrofotômetro utilizando água destilada ou deionizada;
4. Pipetar em uma cubeta termostatizada a 37°C como a seguir:

	Amostra	Padrão
Amostra	20 µL	-
Padrão	-	20 µL
Reagente de trabalho	1,0 mL	1,0 mL

5. Homogeneizar rapidamente, inserir em um porta-cubetas termostatizado e acionar o cronômetro.
6. Ler e registrar a absorbância aos 30 segundos (A1) e aos 90 segundos (A2) em 340 nm.

Cálculos

$$\text{Uréia (mg/dL)} = \frac{(\text{Amostra (1)} - \text{Amostra (2)})}{(\text{Padrão (1)} - \text{Padrão (2)})} \times 50$$

Unidades SI: Uréia (mmol/L) = Uréia (mg/dL) × 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 = 7 a 8 mmol/L*
- **Urina:** 26 a 43 g/24 horas = 428 a 714 mmol/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, apresentou um coeficiente de variação igual a 3,3%. O mesmo procedimento para valores elevados mostrou um coeficiente de variação igual a 1,9%.

Coeficiente de variação inter-ensaio (reprodutibilidade): A realização de 25 determinações de uma mesma amostra com valor dentro da faixa de referência, mostrou um coeficiente de variação igual a 4,3%. O mesmo procedimento para valores elevados mostrou um coeficiente de variação igual a 2,8%.

Especificidade analítica: A comparação com método similar validado (que também utiliza a metodologia da urease/GLDH) 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: $y = 1,043x - 1,17$

Sensibilidade analítica: O método apresenta uma variação de absorbância em 340 nm igual a 0,0009 em cada acréscimo de 1mg/dL na concentração de uréia. O limite de detecção do método é igual a 6 mg/dL.

Interferentes

Não devem ser utilizados sais de amônio como anticoagulantes, pois estes interferem diretamente na reação.

Referências bibliográficas

1. BERGMEYER, H.U (Ed.) Methods of Enzymatic Analysis, Academic Press, p.444.
2. KASSIRER, J.P. New Engl. J. Med. 285: 385, 1971.

Apresentação

Número de testes: 100 – Volume de reagente 1,0 mL / Volume de amostra 20 µL
Número de testes: 200 – Volume de reagente 0,5 mL / Volume de amostra 10 µL

Automação

Os reagentes 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

 (31) 3507 0707

 sac@mbiolog.com.br

COBAS MIRA/ PLUS®

GENERAL	
MEASUREMENT MODE	ABSORB
REACTION MODE	R-S - 1
CALIBRATION MODE	CALIBRATOR - 2
REAGENT BLANK	REAG/DIL - 2
CLEANER	NO - 1
WAVELENGTH	340nm - 1
DECIMAL POSITION	0 (mg/dL)
UNIT	12 (mg/dL)
ANALYSIS	
POST. DIL FACTOR	3
CONC. FACTOR	NO - SPACE
SAMPLE CYCLE	1
VOLUME	2 µL
DILUTION NAME	H2O - 0
VOLUME	10 µL
REAGENT CYCLE	1
VOLUME	300
CALCULATION	
SAMPLE LIMIT	NO - SPACE
REACTION DIRECTION	DECREASE - 2
CHECK	ON - 1
CONVERSION FACTOR	1
OFFSET / TEST RANGE LOW	0 / 0
	HIGH 300 mg/dL
NORMAL RANGE LOW	10
	HIGH 50
NUMBER OF STEPS	1
CALCULATION STEP A	KINETIC - 2
READING FIRST	5
LAST	10
REACTION LIMIT	NO - SPACE
CALIBRATION	
CALIBRATION INTERVAL	ON REQUEST - 3
TIME	NO - SPACE
REAG RANGE LOW /HIGH	NO - SPACE
BLANK RANGE LOW	-0,20 ÅA
	HIGH 0,20 ÅA
STANDARD POS	IPU*
STD - 1	IPU**

EXPRESS 550/PLUS®

TEST NAME: UUV	TEST: UUV
TEST BAR CODE: IPU*	
TEST TYPE: KINETC	CURVE TYPE:: BLAN. LINEAR
UNITS: mg/dL	Nº OF DECIMAL PLACE:: 0
PRIMARY WAVELENGHT: 340	SECONDARY WAVELENGHT: 600
READ TIME / INTERVAL: 60	SAMPLE BLANK: NO
FACTOR:	
CALIBRATION INTERVAL: 168 h	Nº OF REPLICATES: 2
Nº OF CALIBRATOR: IPU*	
LOW BLANK A LIMIT: -0,200	HIGH BLANK A LIMIT: 0,500
LOW A LIMIT: 0,000	HIGH A LIMIT: 2,000
LOW NORMAL: 10	HIGH NORMAL: 50
LINEARITY LIMIT: 300	CURVE S.D. LIMIT: 5
SAMPLE VOLUME: 3 µL	TEST: UUU
SAMPLE DILUENTE BOTTLE TYPE: *	PREDILUTION RATIO: 1
REAGENT DILUENTE BOTTLE TYPE: *	
REAGENT DILUENT: VOL. RAG. BD DIL LAG TIME BT	
REAGENT 1: 400	60 *
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	T.F	DECIMALS	0
WLI	340	LIM LIN MIN	0
WL2	-	LIM LIN MAX	300
BLANK?	NÃO	INTERVALO CIN	060
BLANK- AMOS - PAD?	NÃO/NÃO	DIR	DEC R
CUB FLUXO ?	SIM	ABS REAT MIN	0,00
TEMP?	37 °C	ABS REAT MAX	0,400
VOL ASP	800	ABS PAD MIN	0,1
RETARDO	30	ABS PAD MAX	0,5
PADRÃO	SIM	VR/VN MIN	15
PAD (QUANT)	ÚNICA	VR/VN MAX	39
P1	50		
UNDIDAD	mg/dL		

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

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".

RA-50®

TEMPERATURA	37 °C
VOLUME DA AMOSTRA	10 µL
VOLUME DO REAGENTE	1500 µL
CONCENTRACÃO DO PADRÃO	IPU*
TIPO DE REAÇÃO	CIN. DE 2 PONTOS C/ PADRÃO.
UNIDADES	mg/dL
COMPRIMENTO DE ONDA	340 nm
T1	30
T2	90
INCLINAÇÃO DA REAÇÃO	DECRESCENTE
LINEARIDADE	300 mg/dL
RET. VALOR DO BRANCO	SIM
PRECISÃO DO RESULTADO	0,1 mg/dL
VOLUME DE ASPIRAÇÃO	900 µL

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-310®

LOCALIDAD	IPU*
NOMBRE TECNICA	URÉIA UV
UNIDADES	1
MODO DE CÁLCULO	TFE
MODO DE LECTURA	MONO
FILTRO REFERENCIA	-
FILTRO LECTURA	340
FATOR	-
TIEMPO ESTBILIDAD	1
TIEMPO INCUBACION	30
TIEMPO INTERVALO	60
NÚMERO DE INTERVALOS	-
VOLUME DE ASPIRAÇÃO	800
TIPO DE REACION	Derescente
ESTANDAR	50 (Padrão do kit)
Nº ESTANDARTES	-
DUP. ESTANDARTES	-
DUP. MUESTRAS	-
ESCALAS ABS	-
CONC.	-
FACTOR DILUCION	-
TEMPERATURA	37°C

RA-100®

TEST Nº / TEST NAME	UVV – URÉIA UV
UNITS	mg/dL
LOW NORMAL	10
HIGH NORMAL	50
FACTOR	
STAND. CON	IPU*
TYPE	3
WAVELENGTH	340
SAMPLE VOLUME	2,5
SAMPLE PRIME VOL.	2,5
SAMPLE FLUSH VOL.	250
REAGENT. VOL	250
REAG. PRIME VOL.	12,5
REAG. FLUSH VOL.	450
INCUBATION TIME	35
READ. TIME	70
REAG. ABS LOW	0,60
REAG. ABS HIGH	1,8
REACT. ABS LOW	0,20
REACT. ABS HIGH	1,8
MAX LIN RSLT	300
TEMPERATURA	37 °C
IPU* Inserido Pelo Usuário	

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

ABBOT VP®

NAME INDEX – TES NAME	11
TEMPERATURE	37°C
FILTER ID CODE	43 (340/380)
UNITS	05 (mg/dL)
DILUTION 1:	101 (1:101)
REV. TIME	2
AUX. DISP	NO
FRR	YES
REACTION UP	NO
STANDARD	YES
LOW STANDARD	50 (Padrão do kit)
HIGH STANDARD	50 (Padrão do kit)
REAG. BLANK	YES
END. POINT	NO
BGN PRT REVOLUTION	3
PRT REVOLUTION	1
INITIAL REAGENT AD	0,9
UP LIMIT	NO
SUBTRATE DEPLEITION	05

Todos os equipamentos são marcas registradas de seus fabricantes