



## QUIMIURE - Uréia Urease/GluDH

### Finalidade:

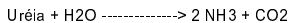
Reação cinética para determinação quantitativa de uréia em amostras de soro e urina humanos. Somente para uso diagnóstico "in vitro".

### Princípio:

A uréia presente na amostra pode ser quantificada, segundo as reações descritas a seguir:

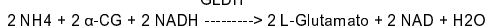
1. A uréia é hidrolisada na presença de água e urease para produzir amônia e dióxido de carbono.

Urease



2. Na presença de glutamato desidrogenase (GLDH) e dinucleotídeo de nicotinamida e adenina (NADH) reduzido, a amônia se combina com um  $\alpha$ -cetogluturato ( $\alpha$ -CG) para produzir L-glutamato.

GLDH



### Metodologia:

Urease GluDH - UV

### Significado Clínico:

A uréia é o maior produto final do metabolismo das proteínas humanas. Ela constitui a maior fração das proteínas componente do sangue. A uréia é produzida no fígado e excretada através dos rins na urina. Conseqüentemente, níveis circulantes de uréia dependem da quantidade que entra de proteína, catabolismo das proteínas e função renal.

Elevados níveis de uréia podem ocorrer com mudanças da dieta, doenças com prejuízo da função renal, doença hepática, insuficiência cardíaca congestiva, diabetes e infecções.

### Reagentes:

Reagente único pronto para uso. Conservar entre 2 - 8 °C. Contém: Solução tampão Tris (pH 8,5) 50 mmol/L,  $\alpha$ -cetogluturato 10 mmol/L, GLDH 8,0 KU/L, urease 5,0 KU/L, NADH > 0,20 mmol/L, azida de sódio 8,0 mmol/L.

Padrão (cód.: 3007): Conservar entre 2 - 30°C. Solução aquosa contendo concentração padrão de uréia. Verifique a concentração do padrão no rótulo do frasco.

Os reagentes não abertos são estáveis até a data de vencimento impressa no rótulo do produto, após abertos os reagentes possuem estabilidade de 3 meses desde que armazenado de 2 à 8°C e on board (no compartimento refrigerado do analisador), a estabilidade depende da eficiência da refrigeração do equipamento e, por isso, pode variar de 7 à 10 dias. Durante o manuseio, os reagentes estão sujeitos a contaminação de natureza química e microbiana que podem provocar redução da estabilidade.

### Precauções e Cuidados Requeridos:

Este reagente deve ser usado somente para diagnóstico "in vitro". Não pipetar com a boca. Evitar contato com a pele e roupa. No caso de contato com os olhos, lavar com grande quantidade de água e procurar auxílio médico. O reagente contém ázida sódica como conservante (0,05%). Este componente pode reagir com cobre e chumbo podendo tornar-se um metal explosivo. Ao descartá-lo, adicionar grande quantidade de água.

Deve-se monitorar a temperatura do ambiente de trabalho bem como o tempo de reação para obtenção de resultados corretos. Não usar se a absorbância do branco for menor do que 1,4 (convertido para 1,0 cm de espaço ótico) quando medido a 340 nm, se houver dificuldade em conseguir os valores estabelecidos para o soro controle fresco. Em equipamentos de automação incluir uma lavagem extra após pipetagem do reagente de uréia.

### Material Necessário não Fornecido:

1. Banho-maria ou analisador capaz de manter uma temperatura de 37°C e capaz de medir absorbância de 340 nm.
2. Pipetas para medição de amostras e reagente.
3. Água destilada/deionizada.
4. Consumíveis do analisador quando usado.
5. Calibradores e soros controle.
6. Medidor de tempo.

### Amostra:

Soro e urina.

A Uréia no soro e na urina é estável por 7 dias se mantido entre 2 - 8°C. A amostra no soro poderá ser congelada (-20°C) por até 1 ano quando vedada. Para urina é recomendada uma diluição de 1:50. Todas as amostras são consideradas potencialmente infectantes, portanto sugerimos manuseá-las seguindo as normas estabelecidas de Biossegurança.

### Preparo do Paciente:

É recomendado um jejum mínimo de 4 horas. Todavia, poderá ser modificado segundo orientação médica.

### Interferências:

Amostras hemolisadas e/ou lipêmicas podem interferir no resultado. Algumas drogas e substâncias afetam a concentração da uréia, sugerimos consultar Young et al.

### Parâmetros do Sistema:

Temperatura: 37°C  
Comprimento de Onda: 340 nm  
Tipo de Reação: Cinética  
Direção: Decrescente  
Relação Amostra/Reativo: 1:100  
Vol. Amostra: 10  $\mu$ L  
Vol. Reagente: 1,0 mL  
Tempo de Incubação: 60 seg. (retardo)  
Intervalo de leitura: 1 minuto  
Número de intervalo: 1

### Calibração:

Utilizar Quimicalib Ebram Cód.7023/12023 ou o padrão que acompanha o kit do cód 3007. A concentração de uréia no calibrador e no padrão são rastreáveis ao método de referência proposto pelo CLSI.

### Procedimento Automatizado:

Aplicação no sistema automatizado: vide manual para utilização do equipamento e instruções de uso do reagente.

Aplicação no sistema semi-automático: proceder como demonstrado a seguir no procedimento manual somente até o item 1 (preparação dos tubos), em seguida utilizar o equipamento para leitura, seguindo protocolo analítico específico baseado no item Parâmetros do Sistema.

Nota: Adicionar as amostras no tubo somente no momento que antecede a aspiração do equipamento.

### Procedimento Manual:

1. Separar 3 tubos de ensaio e realizar os procedimentos conforme abaixo:

	Branco	Padrão	Amostra/S.C.
Água destilada	10 $\mu$ L	-	-
Padrão	-	10 $\mu$ L	-
Amostra/S.C.	-	-	10 $\mu$ L
Reagente	1,0mL	1,0mL	1,0mL

Nota: Realizar a incubação das amostras, padrão e soro controle individualmente.

2. Colocar 1,0 mL do reagente em cada tubo e deixar em banho-maria (BM) a 37°C por 60 segundos. O nível de água no BM deve ser superior ao nível de reagentes nos tubos de ensaio.

3. Zerar o espectrofotômetro a 340 nm com o branco.

4. Cuidadosamente, adicionar 10 $\mu$ L do padrão no tubo correspondente, homogeneizar e deixar em BM a 37°C. Acionar o cronômetro.

5. Registrar as absorbâncias, inicial (A1) aos 30 segundos de incubação e final (A2) quando completar 90 segundos. Proceder em seguida do mesmo modo com os soros controle (S.C.) e as amostras.

Obs.: Procedimento sugerido para espectrofotômetros que requerem volume mínimo de 1,0 mL e podem ser ajustados proporcionalmente sem influência no desempenho do teste. Salientamos que volumes de amostra menores do que 10 $\mu$ L aumentam a imprecisão da medição em aplicações manuais.

### Cálculos:

(Abs.=Absorbância)  
(Conc. = Concentração)  
( $\Delta$  Abs. /min = A2 - A1)

$$\text{Uréia Amostra} = \Delta \text{ Abs. /min(amostra)} \quad \text{Conc. do} \\ \text{(mg/dL)} \quad \text{X} \quad \text{padrão (mg/dL)} \\ \Delta \text{ Abs. /min(padão)}$$

Cálculo para Urina de 24 horas:

$$\text{Urina} = \text{Uréia amostra (g/L)} \times \text{fator diluição} \times \text{Volume (L)}$$

### Exemplo:

$\Delta$  Abs. /min (amostra) = 0,10  
 $\Delta$  Abs. /min (padrão) = 0,14  
Conc. do padrão = 40 mg/dL  
Volume urinário 24 hs = 1,2L  
OBS: g/L = mg/dl x 0,01

$$\text{Uréia Amostra} = (0,10 / 0,14) \times 40 = 29 \text{ mg/dl} \\ \text{Uréia Amostra} = 29 \text{ mg/dl} = 0,29 \text{ g/L}$$

$$\text{Uréia na Urina} = 0,29 \times 50 \times 1,2 \\ \text{Uréia na Urina} = 17,4 \text{ g/24hs}$$

### Linearidade:

Quando executado de acordo com o recomendado, o teste é linear até 200 mg/dL.

Amostras com valores superiores a 200 mg/dL devem ser diluídas com solução salina a ponto de ficarem entre 0,9 - 200 mg/dL e os resultados devem ser multiplicados pelo fator de diluição.

### Controle de Qualidade:

Cada laboratório deve manter um programa interno de qualidade que defina objetivos, procedimentos, normas, limites de tolerância e ações corretivas. Deve-se manter também um sistema definido

para se monitorar a variação analítica do sistema de medição. Aconselhamos o uso dos soros controle Quimicontrol Normal e Quimicontrol Anormal Ebram Cód. 7024/12024 e 7031/12031.

### Valores Esperados:

Soro: 15 a 38 mg/dL

Urina: 15 - 34 g/24 h

Estes valores são dados unicamente como título orientativo. É recomendado que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.

### Estudos Comparativos:

Estudos executados entre este procedimento e uma metodologia similar produziram os seguintes resultados estatísticos:

Número de Amostras:	30
Intervalo dos resultados	11,3 - 130,8
Coefficiente de Correlação:	0,997
Inclinação:	1,00
Intercepta:	0,6 (mg/dL)

### Precisão:

Estudos de precisão foram executados com dois níveis de soro(normal e patológico) sendo que cada amostra fora processada por 10 vezes e os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

N=10	Nível 1	Nível 2
Média (mg/dL)	25,5	99,5
D.P. (mg/dL)	1,13	0,81
C.V. (%)	4,4	0,8

### Exatidão:

As amostras foram processadas por 10 dias consecutivos, uma vez por dia e em duplicata. Os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

N=10	Nível 1	Nível 2
Média (mg/dL)	25,2	100,7
D.P. (mg/dL)	1,4	2,6
C.V. (%)	5,5	2,6

### Sensibilidade Metodológica:

0,9 mg/dL

### Especificidade:

Como as amostras foram selecionadas aleatoriamente em pacientes de ambulatório e hospitalizados, pode-se inferir que o método tem uma especificidade metodológica adequada.

### Observações:

1. A limpeza e a secagem adequadas do material utilizado são fatores fundamentais para estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
2. A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, deve ter resistividade  $\geq 1$  mega ohm ou condutividade  $\leq 1$  microsiemens e concentração de silicatos  $< 0,1$  mg/L (água tipo II). Para o enxágüe da vidraria a água pode ser do tipo III, com resistividade  $\geq 0,1$  megaohms ou condutividade  $\leq 10$  microsiemens. No enxágüe final utilizar água tipo II.

### Apresentação:

Linha Bioquímica Geral: 1 x 200mL + 1 x 1,0mL

Linha Bulk: 1 x 500mL

Linha Quimiset 450: 4 x 45mL

Para mais informações sobre sistemas automáticos, entrar em contato com o SAC EBRAM - tel. (011) 2291-2811, sac@ebram.com ou www.ebram.com

### Referência Bibliográfica:

1. Tietz, N.W. Fundamentals of Clinical Chemistry, Philadelphia W.B. Saunders (1976)
2. Fearon, W.R. Biochem J. 331:902 (1939)
3. Marshall, E.K., Jr., J. Biol. Chem. 15:487 (1913)
4. Gentzkow, C.J., J. Biol. Chem. 143:531 (1952)
5. Fawcett, J.K., Scott, J.E., J. Clin. Path. 13:156 (1960)
6. Talke, H., Schubert, G.E., Klin. Wschr. 43:174 (1965)
7. Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, Philadelphia W.B. Saunders 991 (1976)
8. CLSI document "Protection of Laboratory Workers from Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Issue", 2nd. Ed. (1991)
9. Young, D.S. et al. Clin. Chem. 21:1D (1975)
10. NCCLS document "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2nd. Ed. (1992)
11. Miller, O., Gonçalves, R.R., Laboratório para o Clínico, 8 ed., Atheneu, (1998).
12. Arquivos da EBRAM



### APLICAÇÃO PARA COBAS MIRA

<b>GENERAL</b>	
Measurement Mode:	ABSORB
Reaction Mode:	R-S
Calibration Mode:	Calibrator/Slope AVG1
Reagent Blank:	Reas/Dil
Cleaner:	Before
Wavelength:	340 nm
Decimal Position:	1
Unit:	mg/dl
<b>ANALYSIS</b>	
Dilution Name:	STD
Factor:	Main STD
Time:	Sample Dil Name: H2O
Post Dil Factor 2.00	Conc. Factor: No
Sample:	Cycle: 1
Volume:	Dil: 30ul
Reagent:	Cycle: 1
Volume:	300ul
Start Reagent 1:	Cycle:
Volume:	Dil:
Start Reagent 2:	Cycle:
Volume:	Dil:
<b>CALCULATION</b>	
Sample Limit:	No
Point:	
Reaction Direction:	Decrease
Check:	On
Conversion Factor:	1.00000
Offset:	0.00000
Test Range Low:	0
High:	200
Norm Range Low:	15
High:	38
Number of Slans:	1
Calculation Slope A:	Kinetic
Readings First:	3
Last:	6
Reaction Limit:	
Point:	
Calib. Interval:	On request
<b>CALIBRATION</b>	
Reagent Blank:	
Reagent Range:	
Reagent Range Low:	0.6000
Blank Range Low:	-0.0020
High:	1.2000
Blank Range High:	0.0020
Factor:	
Calibrator Pos:	(1)
STD1:	STD2:
STD3:	STD4:
STD5:	STD6:
STD7:	STD8:
Calc Model:	
Correction STD:	
Replicate:	Duplicate
Deviation:	5%
<b>CONTROL</b>	
CS1 - Pos (1 Assion (***) Low (***) High (***)	
CS2 - Pos (1 Assion (***) Low (***) High (***)	
CS3 - Pos (1 Assion (***) Low (***) High (***)	

(\*) Colocar a posição correspondente do Rack CAL/CS.  
 (\*\*\*) Colocar o valor correspondente do soro controle.

### APLICAÇÃO PARA EXPRESS 550

Test Name: Urea	Test: Urea			
Test Bar Code:				
Test Type: Kinetic	Curve Type: Blanked Linear			
Units: mg/dl	Nº of Decimal Places: 1			
Primary Wavelength: 340	Secondary Wavelength: 380			
Read Time Interval: 40	Sample Blank: No			
Factor:				
Calibration Interval: 999				
Normalization Interval:				
Nº of Calibrators: 2	Nº of Replicates: 2			
Low Blank A Limit: 1.000	High Blank A Limit: 2.000			
Low A Limit: 0.600	High A Limit: 2.000			
Low Normal: 15	High Normal: 38			
Linearity Limit: 200	Curve S.D Limit: 2.00			
Test Name: Urea	Test: Urea			
Test Bar Code:				
Sample Volume: 3ul	Sample Diluent:			
Reagent Dilution Ratio: 1	Predilution Ratio: 1			
Reagent Dilution:				
Reagent 1	Reagent Volume	Bar Code	Diluent Volume	Lag Time
Reagent 2	375	YC2A		60
Reagent 3				
Reagent 4				
Controls:				

### APLICAÇÃO PARA SELECTRA

Name:	Urea
Abbr Name:	URE
Mode:	Two point
Wavelength:	340 nm
Units:	mg/dl
Decimals:	1
Low Conc:	0
High Conc:	200
Calibrator Name:	
Repeat:	2
Number:	1
Concentration:	**
Interval:	*
Cut off:	NO
Prozone Check:	NO
Ref Male Low:	15
Ref Male High:	38
Ref Female Low:	15
Ref Female High:	38
Ref Pad Low:	*
Ref Pad High:	*
Control 1:	*
Control 2:	*
Control 3:	*
Correl Factor:	1.000
Correl Offset:	0.000
<b>DUAL MODE</b>	
Name:	Urdia
Sample Blank:	NO
R1 Bottle:	25 ml
Normal Volume:	300ul
Reagent Volume:	301ul
<b>SAMPLE</b>	
Normal Volume:	3ul
Reagent Volume:	2ul
R2 Bottle:	5 ml
Normal Volume:	0
Reagent Volume:	0
Predilution:	NO
Slope Blank:	
Delay Min Time:	
Linearity Limit:	
Point One Two:	24.77 sec
Incubation Time:	
Low Absorbance:	-0.100
High Absorbance:	3.000
R ABS L Limit:	0.750
R ABS H Limit:	3.000
Substr Depletion:	
Reagent Blank:	3.000
R ABS Deviation:	Yes #
Cal Low Limit:	*
Cal High Limit:	*
Factor:	#
<b>MONO MODE</b>	
Name:	Urdia
Sample Blank:	NO
R1 Bottle:	25 ml
Normal Volume:	300ul
Reagent Volume:	301ul
<b>SAMPLE</b>	
Normal Volume:	3ul
Reagent Volume:	2ul
Delay Min Time:	
Linearity Limit:	
Predilution:	NO
Incubation Time:	32.90 sec
Point One Two:	
Low Absorbance:	-0.100
High Absorbance:	3.000
R ABS L Limit:	1.000
R ABS H Limit:	3.000
Substr Depletion:	0.44
R ABS Deviation:	YES #
Reagent Blank:	YES #
Cal Low Limit:	*
Cal High Limit:	*
Factor:	#

(\*) Dados colocados pelo usuário.  
 (\*\*\*) Colocar o valor correspondente do calibrador.  
 (\*\*\*) Colocar o valor correspondente do soro controle.  
 (#) Dados calculados pelo analisador.

### APLICAÇÃO PARA BTR 810

Name:	Urea
Point Film:	
Unit:	mg/dl
Mode Latex:	
Filter:	340
Tempo Estab:	
Factor:	
Tempo de Incubação:	30
Tempo de Intervalo:	60
Nº de Intervalos:	
Temperatura:	37°C
Volume Amostra:	400
Time Reacto:	Decrecente
Estandar:	**

### APLICAÇÃO PARA QUICK LAB

Mode:	Cinética
Latex:	monocromática
Filter:	340
Temperatura:	37°C
Volume Ace:	400
Unit:	mg/dl
Linea Lin:	200
Inclinação:	
Cálculo:	padrão
Padrão:	**
Factor:	
Delay Inicial:	30
Quant Intery:	60
Tempo Intery:	
Tempo Estab:	4 seg

### APLICAÇÃO PARA BIO 2000

Mode:	T.F.
WLI:	340
Blank:	Não
Blk Amoa Pad:	
Temp:	37°C
Vol Amoa:	0400
Ref:	030
Fac:	
Padrão:	Sim
Pad 1:	Única
Pad 2:	**
Unit:	mg/dl
Dec:	0
Int. Cin:	060
Int. Int:	
AMIN:	
%Lim Lin:	0200
Dir:	Descr
Lim Lin - Min/Max:	
Abs Real - Min/Max:	0.800 / 2.500
Abs Pad - Min/Max:	0.000 / 1.000
Vol/A - Min/Max:	0015 / 0038

### APLICAÇÃO PARA RA-XT

Name:	UREA
Immunosensor:	NO
Chemistry Type:	FIRST ORDER
Blc Type:	
Immuno Chemistry:	YES
% Sample Volume:	8 (30ul)
Wavelength:	340
Biochromatic Chemistry:	
Biochromatic Factor:	
K1:	
K2:	
Blc Limit 1:	
Blc Limit 2:	
Deviation Limit:	0.9500
Delay Time:	0:30
Blank Type:	
Incubation:	1:30
% Reagent Volume:	60 (300ul)
2nd Reagent:	
2nd Reagent Volume:	
A2 Delay:	
Unit:	mg/dl
Unit Factor:	1.000
Decimal Point:	1
RBL Low:	0.500
RBL High:	1.800
Range Low:	0
Range High:	200
Calibration Factor:	(1)
Reagent Rate:	0
Standard Value:	(**)
Normal Low:	15
Normal High:	38
Slope:	1.800
Intercept:	0.000
C1*10E-8:	
C2*10E-8:	
D1*10E-8:	
Delta #:	
Linear Factor:	1.10
Final Limit:	0.8200
Endpoint Limit:	

(\*) Colocar 1 como valor inicial. O valor de CAL FACT é determinado pelo ensaio de calibração.  
 (\*\*\*) Colocar o valor correspondente do calibrador.

### APLICAÇÃO PARA AIRONE

Measure Unit:	mg/dl	Decimals:	1	Reaction Type:	Kinetic
Volume (µl):		Reagent 1:	400	Plasma:	-
Abs Range (m Abs):		Reagent 2:	0	Urine:	4
Linearity Limit:	200.0	Max:	2.500	Reagent Blanking:	Yes
Contaminating:	No	Differential:	No	Filter 1:	None
Filter 1:	340	Filter 2:	None		
Time (sec):	Mix 1: 2.00	Incubation 1:	40	Lag Phase:	10
	Mix 2: 0.00	Incubation 2:	0	Measure:	30
Measurement Type:	Standard	Factor:	0.0		
Normal Range:					
Age (yrs)		Homens		Mulheres	
Below 10:		Min.	Max.	Min.	Max.
From 10 to 60:		15	38	15	38
Over:					

Ebram Prods. Laboratoriais Ltda.  
 Rua Júlio de Castilhos, nº 500 - Belenzinho  
 São Paulo - SP - Cep: 03059-001  
 Tel.: (11) 2291-2811  
 Indústria Brasileira  
 CNPJ.: 50.657.402/0001-31  
 www.ebram.com  
 sac@ebram.com  
 SAC.: (11) 2291-2811  
 Resp.Téc.: Nadjara Novaes Longen  
 CRF-SP - 37.451  
 Nº do Reg. MS: 10159820241  
 Edição: Jun/2020

Disponos de programações para outros analisadores, entre em contato com SAC EBRAM.