



## INSTRUÇÕES DE USO (Versão Ago/23)

# UREIA COLOR

(Urease, Berthelot) - Método enzimático colorimétrico

### FINALIDADE

O conjunto é um sistema que se destina à determinação da uréia no soro, plasma e urina humano. Exclusivo para uso em diagnóstico "in vitro".

### PRINCÍPIO DE AÇÃO

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 ions amônio. Estes em presença de salicilato, hipoclorito e nitroprussiato (reação de Berthelot modificada) produzem o corante azul de indofenol o qual possui um máximo de absorção em torno de 600 nm. A cor formada é proporcional à concentração de uréia presente.

### SIGNIFICADO CLÍNICO

A ureia é o produto de degradação final do metabolismo das proteínas e aminoácidos. No catabolismo das proteínas, estas são fragmentadas em aminoácidos e desaminases. A amônia formada neste processo é sintetizada em ureia no fígado. Esta é a via catabólica mais importante de eliminação do azoto em excesso no organismo humano.

A determinação de ureia constitui o teste mais amplamente utilizado para avaliação da função renal. Este teste é frequentemente usado em conjunto com a determinação de creatinina para o diagnóstico diferencial de hiperuremia pré-renal (descompensação cardíaca, desidratação, aumento do catabolismo das proteínas), hiperuremia renal (glomerulonefrite, nefrite crônica, rins policísticos, nefrosclerose, necrose tubular) e hiperuremia pós-renal (obstrução do aparelho urinário).

Fisiologicamente a ureia se eleva devido dieta hiperproteica ou com a idade, particularmente após 40 anos. Sua diminuição que não tem expressão clínica pode ocorrer em consequência à infusão endovenosa de soluções com carboidratos, redução do catabolismo protéico e aumento da diurese, ocorre na gravidez normal e nos indivíduos em dietas com baixo valor proteico e alto conteúdo glicídico.

### REAGENTES

**Apresentação com 150 mL (soluções concentradas):**

**1. Tampão-Estoque:** 01 frasco com 100 mL de solução tamponada em pH 7,00, 5X concentrada, contendo salicilato de sódio 300 mmol/L, nitroprussiato de sódio 17,5 mmol/L, EDTA 25 mmol/L e p-hidroxibenzoato de metila 6,5 mmol/L. Conservar entre 2 - 8°C.

**2. Reagente Enzimático:** 01 frasco com 25 mL de solução tamponada em pH 7,00, 20X concentrada, contendo urease  $\geq 160$  KU/L, p-hidroxibenzoato de metila 3,2 mmol/L e EDTA 5 mmol/L. Conservar entre 2 - 8°C.

**3. Reagente de Cor-Estoque:** 01 frasco com 25 mL de solução 20X concentrada, contendo hipoclorito de sódio 220 mmol/L e hidróxido de sódio 3500 mmol/L. Conservar entre 2 - 8°C.

**4. Padrão:** 01 frasco com 3,0 mL de solução aquosa de uréia 70 mg/dL (11,67 mmol/L), contendo ácido benzóico 20 mmol/L. Conservar entre 2 - 8°C.

### MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

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

### CUIDADOS NO ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DOS REAGENTES

As datas de fabricação e validade aparecem no rótulo da embalagem. Não usar reagentes cuja data de validade tenha expirado.

Todos os reagentes devem ser mantidos sob refrigeração, na faixa de 2-8°C. Não congelar. Manter ao abrigo da luz. Os reagentes devem permanecer fora do refrigerador apenas o tempo necessário para as dosagens. Antes de serem abertos, os reagentes podem ser transportados em temperaturas na faixa de 15-25°C, até um limite de 48 horas.

### PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

1. Somente para uso diagnóstico "in vitro".
2. O uso de água deionizada na diluição do **Tampão-Estoque** oriunda de colunas saturadas pode provocar a contaminação irreversível do reagente.
3. O **Reagente de Cor Estoque** é cáustico.
4. Evitar o contato. Em caso de ingestão acidental, procurar auxílio médico imediato. Não provocar vômitos.
5. O **Padrão(4)** contém ácido benzóico, causador de irritações alérgicas cutâneas em pessoas sensíveis. Caso haja contato, lavar imediatamente a área afetada com água em profusão.
6. O **Padrão** é fornecido em concentração usual fixa. O desempenho do ensaio pode ser afetado se este reagente for modificado ou não for armazenado nas condições recomendadas.
7. Ver Cuidados no armazenamento e transporte dos reagentes.
8. Evitar contaminação com íons metálicos ou agentes oxidantes.
9. O espectrofotômetro ou mesmo equipamentos automatizados devem ficar livres de contaminação microbiana, serem calibrados corretamente e receber manutenção de acordo com as instruções do fabricante.
10. Não misturar ou trocar diferentes lotes de reagentes.
11. Evitar contaminação microbiana dos reagentes e não utilizar reagentes que tenham sinais de contaminação ou precipitação.
12. Usar pipetas de vidro e ponteiras descartáveis separadas para cada amostra, controle (se utilizado) e reagente e não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, a fim de evitar contaminação cruzada, o que poderia causar resultados errôneos. Não dispensar os reagentes em tubulação contendo ferro galvanizado.
13. Usar luvas descartáveis quando manusear reagentes e amostras.
14. Não comer, beber, fumar, armazenar ou preparar alimentos, ou aplicar cosméticos dentro da área de trabalho onde reagentes e amostras estiverem sendo manuseados.
15. As amostras devem ser descartadas, após o uso, em recipientes específicos.
16. Não dispensar em coletores de lixo comuns ou nas redes de água e esgoto.
17. Lavar sempre as mãos após trabalhar com material potencialmente infeccioso.
18. Todo o material biológico deve ser processado como sendo potencialmente contaminante.

### AMOSTRA

#### **Soro ou Plasma (fluoreto, heparina, EDTA)**

A uréia no soro ou plasma, sob refrigeração(2-8° C), é estável por 7 dias.

#### **Urina**

A urina de 24 horas deve ser colhida em frasco contendo 2 mL de HCl a 50% (v/v). Centrifugar antes de processar e diluir a amostra 1:50 (0,1 mL de urina + 4,9 mL de água destilada ou deionizada).

Multiplicar o resultado obtido por 50.

### PROCEDIMENTO

#### **Preparo dos reagentes:**

**A. Tampão de Uso:** Transferir o conteúdo do frasco **Tampão-Estoque** para um balão volumétrico de 500 mL e completar o volume com água destilada ou deionizada. Armazenar em frasco âmbar.

O Tampão de Uso é estável 12 meses entre 2-8°C.

**B. Reagente Enzimático de Uso:** Adicionar 5,0 mL do conteúdo do frasco **Reagente Enzimático** a 100 mL de **Tampão de Uso** e homogeneizar bem. **Armazenar em frasco de vidro âmbar. Não armazenar em frasco de plástico.**

Este reagente é estável por 21 dias, se mantido fora da geladeira apenas o tempo necessário para as dosagens, ao abrigo da luz.

Podem-se preparar volumes menores do Reagente Enzimático de Uso transferindo-se o volume desejado de Tampão de Uso para um frasco de vidro âmbar, adicionando-se o volume equivalente de **Reagente Enzimático**, sempre na proporção de 20 mL de Tampão de Uso para 1,0 mL de **Reagente Enzimático**.

*Nota: o Reagente Enzimático de Uso é extremamente fotossensível; mantê-lo ao abrigo da luz solar direta.*

*A água utilizada no preparo do Tampão de Uso deve ser de alta qualidade. Resinas deionizadoras saturadas liberam substâncias oxidantes na água que podem alterar de modo imprevisível o Reagente Enzimático de Uso.*

**C. Reagente de Cor de Uso:** Transferir o conteúdo do frasco **Reagente de Cor-Estoque** para um balão volumétrico de 500 mL e completar o volume com água destilada ou deionizada. **Armazenar em frasco de plástico. Não armazenar em frasco de vidro.**

Este reagente é estável 12 meses entre 2-8°C.

#### **Dosagem (soro ou plasma e urina diluída):**

Separar 3 tubos de ensaio e proceder como a seguir:

	Branco	Teste	Padrão
<b>Amostra</b>	-	0,01 mL	-
<b>Padrão</b>	-	-	0,01 mL
<b>Reag. Enzim. Uso</b>	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

Homogeneizar bem e colocar em banho-maria a 37° durante 5 minutos.

	Branco	Teste	Padrão
<b>Reag. de Cor de Uso</b>	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

Homogeneizar bem e colocar em banho-maria a 37°C durante 5 minutos. Determinar as absorbâncias do Teste e do Padrão em 600 nm acertando o zero com o Branco. A cor formada é estável por 2 horas.

## CÁLCULOS

1. Uréia (mg/dL) = (Abs.doTeste ÷ Abs.do Padrão) x70
2. Fator de calibração = 70 ÷ Absorbância do Padrão
3. Uréia (mg/dL) = Absorbância do Teste x Fator
4. Uréia (mg/24 horas, urina) ÷ (mg/dL x volume de 24 horas em mL) ÷ 100
5. Uréia (g/24h, urina) = mg/24h ÷ 1000
6. Uréia (mmol/L) = mg/dL x 0,167

## Exemplo:

### Soro:

- Absorbância do teste = 0,280 Absorbância do padrão = 0,590
- Uréia (mg/dL) = (0,280 ÷ 0,590) x 70 = 33,2
- Fator de calibração = 70 ÷ 0,590 = 118,6
- Uréia (mg/dL) = 118,6 x 0,280 = 33,2

### Urina:

- Absorbância do teste = 0,500 Absorbância do padrão = 0,590
- Volume urinário = 1200 mL/24h
- Uréia (mg/dL) = (0,500 ÷ 0,590) x 70 x 50 (fator de diluição) = 2966
- Uréia (mg/24h) = (2966 x 1200) ÷ 100 = 35592.
- Uréia (g/24h) = 35592 ÷ 1000 = 35,59

## VALORES DE REFERÊNCIA

<b>Soro ou plasma</b>	15 a 40 mg/dL
<b>Urina</b>	25 a 43 g/24 horas

## LINEARIDADE

A reação é linear entre 7 e 250 mg/dL. Para valores acima de 250 mg/dL, diluir a amostra com água destilada. Multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

## DADOS ESTATÍSTICOS DE DESEMPENHO DO TESTE

**Sensibilidade:** 99%.

**Exatidão:** A comparação com método similar validado (que também utiliza a metodologia da urease) demonstrou um coeficiente de correlação, r, igual a 0,998 a partir da análise de amostras aleatórias oriundas de pacientes de ambulatório. A equação de regressão obtida foi:  $y = 0,961x - 1,055$ , que demonstra uma exatidão de 99%.

### Precisão:

**Repetibilidade:** realização de 20 determinações de uma mesma amostra com valor dentro da faixa de referência, obtendo-se os seguintes resultados:

Repetibilidade	Amostra
Média	89
Desvio Padrão	1,0
Coefficiente de Variação	1,1

**Reprodutibilidade:** A realização de 20 determinações de uma mesma amostra, realizada por um operador diferente, utilizando o mesmo equipamento de medição, com valor dentro da faixa de referência, obtendo-se os seguintes resultados:

Reprodutibilidade	Amostra
Média	92
Desvio Padrão	1,4
Coefficiente de Variação	1,5

**Sensibilidade analítica:** O método apresenta uma variação de absorvância em 600 nm igual a 0,0084 em cada acréscimo de 1 mg/dL na concentração de uréia. O limite de detecção do método é igual a 7 mg/dL.

## CONTROLE DA 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.

## INTERFERENTES

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

Não usar anticoagulantes contendo sais de amônio.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bergmeyer, H.U (Ed.) Methods of Enzymatic Analysis, Academic Press, p.449, 1985.
2. Searcy, R.L. et al Am. J. Med. Tech. 27:255, 1961
3. Fawcett, J.K. & Scott, J.E. Brit. J. Clin. Path. 13:156, 1960.
4. Tobacco, A., Meittini, F. et. al. Clin. Chem. 25:336, 1979.
5. Katal: Dados de arquivo

## APRESENTAÇÃO

150 mL	Volume
1. Tampão-estoque	1 x 100 mL
2. Reagente Enzimático	1 x 25 mL
3. Reagente de Cor-Estoque	1 x 25 mL
4. Padrão	1 x 3 mL

## CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

O desempenho deste sistema diagnóstico, medido pelas propriedades descritas nesta Instrução de Uso, está garantido até a sua data de vencimento, desde que obedecidas as seguintes condições:

1. A adesão estrita, pelo usuário, ao quadro de procedimento técnico.
2. As condições de armazenamento estarem de acordo com o recomendado nesta Instrução de Uso.
3. Os materiais necessários e não fornecidos com o produto, estarem em boas condições de uso

## ASSESSORIA CIENTÍFICA

Para esclarecimentos de dúvidas e Assessoria Científica ligue:

**(31) 3157-3688 ou (11) 99217-8407**

e-mail: [sac@katal.com.br](mailto:sac@katal.com.br)



Katal Biotecnológica Ind. Com. Ltda.

Rua: Leiria, 1.160 - CEP 31255-100.

Belo Horizonte - MG – Brasil – CNPJ: 71.437.917/0001-04

Responsável Técnica: Raquel Miranda Gonzaga – CRBio 076936/04-D

MS: 10377390181

**Data da última revisão: 29/08/2023**

SÍMBOLOS UTILIZADOS PARA PRODUTOS DIAGNÓSTICOS IN VITRO	
	Conteúdo suficiente para <n> testes
	Data limite de utilização do produto (dd/mm/aaaa)
<b>CAL</b>	Material Calibrador
	Limite de temperatura (conservar a)
	Consultar instruções de uso
<b>REF</b>	Código do Produto
<b>IVD</b>	Produto para Diagnóstico In Vitro
<b>LYOPH</b>	Liofilizado
	Corrosivo
	Risco Biológico
	Tóxico
<b>R</b>	Reagente
	Fabricado por
<b>LOT</b>	Número de Lote