UREIA

MÉTODO:
Cinético UV (Urease).

FINALIDADE:
Kit de reagentes para a determinação quantitativa da ureia no soro, plasma ou urina em sistemas fotométricos.
Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

SIGNIFICADO CLÍNICO:
A determinação de ureia é o teste mais comumente utilizado para avaliação da função renal. O ensaio é frequentemente utilizado em conjunto com a determinação de creatinina para o diagnóstico diferencial de hiperuremia pré-renal (descompensação cardíaca e catabolismo proteico elevado), hiperuremia renal (glomerulonefrite, nefrite crônica, rim policístico, nefrosclerose e necrose tubular) e hiperuremia pós-renal (obstrução do trato urinário). A ureia é o produto final da degradação de proteínas e metabolismo de aminoácidos. A amônia formada no processo é convertida em ureia no fígado e é a via catabólica mais importante para eliminação do excesso de nitrogênio no corpo.

FUNDAMENTO:
A ureia é hidrolisada na presença de urease para produzir amônia e CO_2. A amônia produzida reage com 2-oxoglutarato e NADH catalisada pela glutamato desidrogenase (GLDH), formando glutamato e NAD^+. A taxa de decréscimo de NADH medido fotometricamente é proporcional à concentração de ureia presente na amostra.

$$Ureia + H_2O + 2H^+ \xrightarrow{Urease} 2NH_4^+ + CO_2$$

$$2NH_4^+ + 2\text{-}oxoglutarato + 2\ NADH \xrightarrow{GLDH} Glutamato + H_2O + 2NAD^+$$

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO:
Conservar entre 2 e 8 °C.

COMPOSIÇÃO:

R1:		
Tampão Tris	≥100	mmol/L
Hidróxido de Sódio	≥250	mmol/L
Surfactantes	<5,0	g/L
R2:		
Tampão Tris, pH 9,6	≥100	mmol/L
NADH	≥1,5	mmol/L
2-Oxoglutarato	≥170	mmol/L
Azida sódica	0,2	g/L

PREPARO DO REAGENTE:
Os reagentes estão prontos para o uso.

Opcionalmente, os reagentes podem ser utilizados como Reagente de Trabalho. Sendo que, nesse caso, a proporção da mistura é de 4 partes de Reagente 1 com 1 parte do Reagente 2. Homogeneizar antes do uso.

ESTABILIDADE:
R1 e R2 são estáveis até a data de validade impressa no rótulo se mantidos fechados de 2 a 8 °C.
O Reagente de trabalho é estável por 10 dias entre 2 e 8 °C.
Não congelar!

Estabilidade *on board*
Após a abertura e instalação no analisador, os reagentes permanecem estáveis **por até 24 dias**, desde que mantidos no compartimento refrigerado dos analisadores Vyttra – BM SERIES.

Deve-se substituir o reagente imediatamente ao identificar sinais de instabilidade ou deterioração, tais como:
- Degradação Física: Presença de turbidez, precipitação ou alteração na coloração original da solução e sinais visíveis de vazamento.
- Inconsistência Analítica: Resultados de controles fora dos limites de tolerância, critérios de aceitação estabelecidos, ou falhas consecutivas no processo de calibração do sistema analítico.

Frequência de Calibração
A calibração desse ensaio deve ser realizada quando inserido no sistema. Uma nova calibração deverá ser executada quando houver:
- Troca de Lote: Instalação de um novo lote de reagentes
- Intervenção Técnica: Após manutenções preventivas ou corretivas.
- Inconsistência Analítica: Resultados de controles fora dos critérios de aceitação estabelecidos.

A calibração do ensaio é válida **por até 15 dias**, podendo ser antecipada caso um dos cenários acima ocorra.

Nota: A periodicidade da calibração pode ser redefinida pelo laboratório, desde que fundamentada em evidências documentadas que comprovem a manutenção do desempenho analítico dentro dos limites especificados.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA:
O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado como descrito acima e em sua embalagem original.

PRECAUÇÕES:
- A manutenção das características de desempenho e da segurança do produto é também de responsabilidade do laboratório usuário, que deve assegurar o cumprimento das Boas Práticas de Laboratório, a utilização conforme esta Instrução de Uso, o armazenamento, transporte e manuseio adequados, a calibração, verificação e manutenção dos equipamentos, a capacitação dos profissionais envolvidos, bem como a utilização de níveis de controle de qualidade apropriados ao ensaio, conforme os requisitos aplicáveis
- Os reagentes não necessitam ser tratados como amostras contaminantes.
- Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação do reagente.
- Não há como assegurar que amostras biológicas e soros controles estão totalmente isentos de agentes infecciosos, portanto, é recomendado manuseá-los de acordo com as instruções de biossegurança. Para as informações de segurança do produto, consultar a Ficha de Segurança (FDS).
- Para o descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, sugerimos utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para a preservação ambiental.
- Os reagentes contêm azida sódica como conservante. Evitar contato com a pele e mucosas. Em caso de contato com os olhos, lavar com bastante água por vários minutos.

AMOSTRA BIOLÓGICA:
Soro ou plasma (EDTA, heparina) livres de hemólise e urina.

ESTABILIDADE DAS AMOSTRAS[12]:
A estabilidade da ureia na amostra de soro ou plasma é de até 7 dias entre 2 e 8 °C, 4 dias entre 20 e 25 °C e 3 meses a -20 °C. Plasmas fluoretados e oxalatados podem causar inibição nos resultados. Não usar anticoagulantes contendo amônia.
A estabilidade da ureia na amostra de urina é de 7 dias entre 2 e 8°C e 4 semanas a -20°C.
Descongelar as amostras apenas uma vez e descartar amostras contaminadas!

INTERFERENTES:
Nenhuma das substâncias abaixo apresentou interferência até as seguintes concentrações:

Bilirrubina	20 mg/dL
Hemoglobina	300 mg/dL
Triglicérides	2000 mg/dL

Para evitar risco de *carry over,* o teste de UREIA não deve ser posicionado em sequência aos testes GLDH ou Lactato UV nos analisadores. Quando aplicável, a equipe de assistência técnica deve ser acionada para realizar lavagem especial entre os testes.

Os íons de amônio endógenos da urina podem interferir na dosagem de Ureia[14]

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:
- Fotômetro UV/VIS
- Pipetas
- Cronômetro
- Tubos de ensaio
- Solução NaCl 9,0 g/L
- Banho-maria a 37 °C
- Controles e calibrador

MÉTODO DE ANÁLISE:
A-Preparo:
Termostatizar o reagente de uso na temperatura desejada. A temperatura deve permanecer constante (±0,5 °C) durante a execução do teste.

Preparo da amostra de urina:
1- Homogeneizar a urina e medir o volume da amostra
2- Separar 5 mL de urina e adicionar 1 gota de HCl concentrado
3- Centrifugar por 10 minutos a 3000 rpm e utilizar o sobrenadante para a realização do teste e o fazer dentro de poucas horas, pois a ureia na urina é facilmente degradada por bactérias
4- Diluir a urina na proporção 1:50 (100 µL de urina + 4900 µL de água deionizada)
5- Multiplicar o resultado por 50 (fator de diluição)

B-Leitura em espectrofotômetro:
Comprimento de onda (λ): 340 nm
Temperatura: 37 ±0,5 °C
Tipo de reação: Tempo fixo decrescente
Calibração: Linear de 2 pontos, contra reagente branco

C-Esquema de pipetagem:
1- Em três tubos ou cubetas marcados como Branco, Padrão e Amostra, proceder conforme o protocolo a seguir:

Pipetar	Tubos ou cubetas		
	Branco	**Padrão**	**Amostra**
R1	1000 µL	1000 µL	1000 µL
Água	10 µL	---	---
Calibrador/Padrão	---	10 µL	---
Amostra	---	---	10 µL
Homogeneizar bem e incubar por 1 minuto, então adicione:			
R2	250 µL	250 µL	250 µL

2- Homogeneizar bem, incubar por 1 minuto a 37 °C
3- Ler a absorbância 1 do Calibrador/Padrão e da Amostra contra o Branco (ΔAbs1) a 340 nm
4- Incubar por 2 minutos e ler absorbância 2 do Calibrador/Padrão e da Amostra contra o Branco (ΔAbs2), respeitando o mesmo comprimento de onda utilizado na absorbância inicial

D-Cálculo com padrão:
$\Delta Abs = \Delta Abs1 - \Delta Abs2$

$$\text{Ureia (mg/dL)} = \frac{\Delta Abs_{\text{Amostra}}}{\Delta Abs_{\text{Padrão}}} \times \text{Concentração do calibrador/padrão}$$

Exemplo:
$\Delta Abs_{Amostra} = 0,464$
$\Delta Abs_{Padrão} = 0,532$

UREIA

Concentração do calibrador/padrão: 42 mg/dL

$$\text{Ureia (mg/dL)} = \frac{0{,}464}{0{,}532} \times 42 \text{ mg/dL}$$

Ureia (mg/dL) = **36,6 mg/dL**

E-Cálculo com fator:
Pela Lei de Lambert-Beer, o fator de calibração pode ser aplicado:

$$\text{Fator de calibração} = \frac{\text{Concentração do Padrão}}{\text{Absorbância do Padrão}}$$

$$\text{Ureia (mg/dL)} = \Delta Abs_{\text{Amostra}} \times \text{Fator de calibração}$$

Exemplo:

$$\text{Fator de calibração} = \frac{42 \text{ mg/dL}}{0{,}532}$$

Fator de calibração = 78,9
Ureia (mg/dL) = 0,464 × 78,9
Ureia (mg/dL) = **36,6 mg/dL**

F-Cálculo para urina de 24 horas:

$$\text{Ureia (mg/24 h)} = \frac{\text{Concentração (mg/dL)} \times \text{Volume urinário (mL)}}{100}$$

$$\text{Ureia (g/24 h)} = \frac{\text{Concentração (mg/24 horas)}}{1000}$$

VALORES DE REFERÊNCIA:

Soro e plasma		
Recém-nascido – 12 meses	2 – 34 mg/dL	(0,33 – 5,64 mmol/L)
1 – 13 anos	8 – 36 mg/dL	(1,33 – 5,98 mmol/L)
Adulto	15 – 45 mg/dL	(2,49 – 7,47 mmol/L)
Urina 24 h		
Todas as idades	26 – 43 g/24hr	

Esses valores são fornecidos somente como orientação, cada laboratório deve estabelecer sua faixa de referência.

Conversão unitária para amostras de soro: 1 mg/dL × 0,166 = mmol/L
Conversão unitária para amostras de urina: 1 g/24 horas x 16,67 = mmol/24hr

AUTOMAÇÃO:
Adaptação especial para analisadores está disponível e será enviada ao consumidor quando solicitada.

LINEARIDADE:
Para amostra de soro/plasma: A reação é linear até a concentração de 300 mg/dL (50 mmol/L). Se os valores excederem esse intervalo, as amostras devem ser diluídas com solução NaCl 9,0 g/L e multiplicadas pelo fator de diluição aplicado.

Para amostra de urina: A reação é linear até a concentração de 300 mg/dL (50 mmol/L). Se os valores excederem esse intervalo, as amostras devem ser diluídas com água qualidade reagente e multiplicadas pelo fator de diluição aplicado.

SENSIBILIDADE:
Para amostra de soro/plasma: O limite inferior de detecção é 1,1 mg/dL (0,18 mmol/L).

Para amostra de urina: O limite inferior de detecção é 16,41 mg/dL (2,72 mmol/L).

PRECISÃO:
Repetibilidade:
A repetibilidade foi calculada a partir de 25 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

INTRAENSAIO n = 25 Amostra de soror/plasma	**Média (mg/dL)**	**Desvio padrão (mg/dL)**	**CV%**
Amostra 1	6,3	0,187	2,98
Amostra 2	24,5	1,059	4,32
Amostra 3	53,0	1,501	2,83

INTRAENSAIO n = 25 Amostras de urina	**Média (mg/dL)**	**Desvio padrão (mg/dL)**	**CV%**
Amostra 1	2550,00	28,87	1,13
Amostra 2	1368,00	24,49	1,79
Amostra 3	294,00	21,98	7,48

Reprodutibilidade:
A reprodutibilidade foi calculada a partir de 25 determinações sucessivas durante 5 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

INTERENSAIO *n = 25* Amostra de soror/plasma	**Média (mg/dL)**	**Desvio padrão (mg/dL)**	**CV%**
Amostra 1	6,0	0,158	2,62
Amostra 2	24,3	1,019	4,19
Amostra 3	53,0	2,232	4,21

INTRAENSAIO *n = 25*	**Média (mg/dL)**	**Desvio padrão (mg/dL)**	**CV%**
Amostras de urina			
Amostra 1	2536,11	33,46	1,32
Amostra 2	1375,0	25,72	1,87
Amostra 3	294,44	23,57	8,00

COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS:
Para amostra de soro/plasma: Foram realizados testes com 77 amostras comparando-se o reagente UREIA (y) a um teste comercialmente disponível (x). A análise de regressão linear de Passing-Bablok resultou em:
$y = 0{,}992x + 0{,}414$ coeficiente de correlação (r-Pearson) = 0,999

Para amostra de urina: Foram realizados testes com 50 amostras comparando-se o reagente UREIA (y) a um teste comercialmente disponível (x). A análise de regressão linear de Passing-Bablok resultou em:
$y = 1{,}005x + 66{,}698$ coeficiente de correlação (r-Pearson) = 0,987

CALIBRAÇÃO E CONTROLE DE QUALIDADE:
Para Calibração e Controle Interno de Qualidade Laboratorial recomenda-se o uso do calibrador e controles abaixo:
VYTCAL Multicalibrador Universal Bioquímica Clínica
VYTCON BQ I
VYTCON BQ II

APRESENTAÇOES:

	REFERÊNCIA	**VOLUME**	**CONTEÚDO**	
			R1	**R2**
UREIA (Universal)	VYT010307192EN	150 mL	4 x 30 mL	2 x 15 mL
	VYT010308675EN	500 mL	4 x 100 mL	1 x 100 mL
UREIA (BM SERIES I)	VYT010308673EN	100 mL	2 x 40 mL	2 x 10 mL
	VYT010308672EN	200 mL	4 x 40 mL	4 x 10 mL
UREIA (BM SERIES III)	VYT010307490EN	375 mL	5 x 60 mL	5 x 15 mL

ANVISA: 81692610097

BIBLIOGRAFIA:

1. Kaplan, LA, Pesce, AJ. Methods in Clinical Chemistry, St. Louis: The C.V. Mosby Co., 1987.
2. Ricos C et al. Scand J Clin Lab Invest. 59:491-500, 1999.
3. Statland B.E. Clinical Decision Levels for Laboratory Tests, Second Edition [Oradell NJ;Medical Economics Books, 1987.
4. Frase, CG. Biological Variation: from principles to pratice; AACC Press, 2001.
5. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Clin Chem. 24:863-8690, 1986.
6. Young DS. Ann Clin Biochem. 34(6):579-581, 1997
7. Krieg M et al. J Clin Chem Clin Biochem. 24:863, 1986.
8. Bergmeyer, HU. Methods of Enzimatic Analisis, vol. 9, VCH Publishers, 1985.
9. Clancy D et al. AAPS PharmSciTech. 18, 1158–1176, 2017.
10. Wong ECC et al. Pediatric Reference Intervals, 8th Ed. San Diego, CA: AACC Press, 2021.
11. Wu AHB. Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests., 4th Ed. Missouri: Elsevier (Saunders), 2006.
12. WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and serum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 rev. 2, 2002:31
13. Kartlaşmış, Kezban, et al. An in Vitro Experimental Study on the Interference of Glyphosate on the Urease Enzyme. Cukurova Medical Journal, vol. 49, no. 3, Sept. 2024, pp. 779-92.
14. Liu L, Mo H, Wei S, Raftery D. Quantitative analysis of urea in human urine and serum by H nuclear magnetic resonance. *Analyst.* 2012;137:595–600.

SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CLIENTE – SAC:
Dúvidas técnicas no procedimento ou manuseio deste kit, entrar em contato com:

ASSESSORIA CIENTÍFICA – VYTTRA DIAGNÓSTICOS
Tel. 0800 703 4043

FABRICANTE:
Vyttra Diagnósticos S.A.
Avenida Radamés Lo Sardo, 222 - Bairro Uberaba - Bragança Paulista - São Paulo
CEP: 12908-829 CNPJ: 00.904.728/0012-09
Responsável Técnica: Patrícia Yamaguti - CRF/SP: 32622

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO:

- Data de Fabricação
- Data de Validade
- Limite de Temperatura
- REF — Código do Produto
- Consultar Instruções de Uso
- LOT — Número do Lote
- IVD — Produto para Diagnóstico In Vitro