

Bioclin

URÉIA ENZIMÁTICA

REF

K047

INSTRUÇÕES DE USO

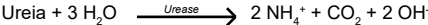


FINALIDADE

Método para a determinação da Ureia em amostras de soro, plasma (EDTA, Heparina ou Citrato) e Urina. Teste enzimático colorimétrico, somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Enzimático Colorimétrico
A Ureia é hidrolisada a íons Amônio e CO₂, pela Urease.



Em pH alcalino e na presença de Salicilato e Hipoclorito de Sódio, a Amônia origina um composto esverdeado, cuja intensidade de cor é proporcional à concentração de Ureia na amostra analisada.

REAGENTES

Número 1 - Padrão - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Ureia 70,0 mg/dL e acidificante.

Número 2 - Enzima - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Tampão Fosfato < 100 mmol/L, Ácido Mercaptosuccínico < 0,18 mmol/L, Albumina < 60 mmol/L, EDTA Sal Dissódico < 5 mmol/L, Urease < 500 KU, estabilizantes e conservante.

Número 3 - Tampão Estoque - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Tampão Fosfato < 100 mmol/L, Nitroprussiato de Sódio < 38 mmol/L, estabilizantes e conservante.

Número 4 - Oxidante Estoque - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Hidróxido de Sódio < 3,0 mol/L e Hipoclorito de Sódio < 2%.

APRESENTAÇÃO

REAGENTE	VOLUME
Nº 1	3 mL
Nº 2	25 mL
Nº 3	100 mL
Nº 4	50 mL

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Espectrofotômetro ou colorímetro, banho-maria 37°C, relógio ou cronômetro, pipetas, tubos de ensaio, balão volumétrico, Biocontrol N e Biocontrol P Bioclin. Estes itens são encontrados no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento deverá ser de 2 a 8°C. O transporte, em temperaturas até 30°C, não deverá exceder 5 dias. Manter no abrigo da luz e evitar umidade. **Não congelar.**

CUIDADOS ESPECIAIS

- Somente para uso diagnóstico *in vitro* profissional.**
- Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos.
- A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes.

4- Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, íons diversos e agentes oxidantes e redutores, que podem alterar de forma significativa os resultados.

5- Metais pesados e fluoreto (acima de 2 mg/dL) são inibidores da Urease.

6- Não fumar próximo ao local onde se realizam as dosagens, pois a fumaça contém vapores de Amônia que contaminam a amostra, levando a valores falsamente aumentados.

7- O Reagente Nº 4 é cáustico; manuseá-lo com cuidado. O Reagente Nº 2 contém Azida Sódica, irritante para pele e mucosas.

8- Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.

9- Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) disponibilizadas no site www.bioclin.com.br ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.

10- Não utilizar o produto em caso de danos na embalagem.

11- É imprescindível que os instrumentos e equipamentos utilizados estejam devidamente calibrados e submetidos às manutenções periódicas.

AMOSTRAS

Soro, Plasma (colhido com EDTA, Heparina ou Citrato) e Urina. Não utilizar anticoagulantes contendo amônia.
A amostra de Soro ou Plasma é estável por 7 dias entre 2 e 8°C ⁵, e 3 meses a -20°C.
A amostra de Urina é estável por 7 dias entre 2 e 8°C e 4 semanas a -20°C. ⁵

Para dosagem da Ureia na urina, coletar amostra de 24 horas em frasco contendo 2,0 mL de HCl a 50% (V/V). Centrifugar a amostra antes de iniciar a técnica e proceder a análise dentro de poucas horas, pois a Ureia excretada na urina é facilmente decomposta por ação bacteriana.

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

PREPARO DO TAMPÃO DE TRABALHO

Adicionar o conteúdo do Reagente Nº 3 (Tampão Estoque - 100 mL) em 400 mL de água destilada ou deionizada e homogeneizar bem. Armazenar em frasco âmbar bem fechado. O Tampão de Trabalho é estável 12 meses entre 2 e 8°C.

PREPARO DO REAGENTE DE TRABALHO

Adicionar 1 parte do Reagente Nº 2 (Enzima) em 20 partes do Tampão de Trabalho e homogeneizar bem. Exemplo: Adicionar 1,0 mL do Reagente Nº 2 em 20 mL do Tampão de Trabalho e homogeneizar. Conservar em frasco âmbar. O reagente de trabalho é estável por 20 dias, entre 2 e 8°C.

PREPARO DO OXIDANTE DE TRABALHO

Diluir o Reagente Nº 4 (Oxidante Estoque) em 450 mL de água destilada ou deionizada. Conservar em frasco plástico. Estável 12 meses entre 2 e 8°C.

TÉCNICA

A Bioclin recomenda, para uso do kit, utilizar como soro controle os kits Biocontrol N e Biocontrol P Bioclin.

A estabilidade de calibração do kit Ureia Enzimática instalado em equipamento com refrigeração é de pelo menos 20 dias. Esta estabilidade pode variar de acordo com as condições do teste, do equipamento e do ambiente. Portanto, sugere-se acompanhar o desempenho do produto utilizando soros controles.

Marcar 3 tubos de ensaio como B (Branco), A (Amostra) e P (Padrão), e proceder como a seguir:

	Branco	Padrão	Amostra
Amostra	---	---	10 µL
Reagente Nº 1	---	10 µL	---
Reag. Trabalho	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL
Homogeneizar e colocar em banho-maria 37°C, por 5 minutos			
Oxidante de Trabalho	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL
Homogeneizar e colocar em banho-maria 37°C, por 5 minutos			

Ler a absorbância da Amostra e do Padrão em 600 nm (570 - 610 nm), acertando o zero com o Branco. A cor é estável por 60 minutos.
Para dosagem de Ureia na urina, seguir a técnica acima, utilizando Amostra diluída 1 : 50 (100 µL de urina + 4,9 mL de água destilada ou deionizada). Multiplicar o resultado obtido por 50.

CÁLCULOS

Ureia (mg/dL) = $\frac{\text{Absorbância da Amostra}}{\text{Absorbância do Padrão}} \times 70$

Como a reação segue a Lei de Lambert-Beer, o Fator de Calibração pode ser usado.

Fator de Calibração = $\frac{\text{Concentração do Padrão (70 mg/dL)}}{\text{Absorbância do Padrão}}$

Ureia (mg/dL) = Absorbância da Amostra x Fator de Calibração

Urina

Ureia (g/24h) = $\frac{\text{Abs. do Teste} \times \text{Fator} \times 50 \times \text{Volume(L)}}{100}$

Os resultados para soro ou plasma serão expressos em mg/dL e para urina em g/24h.

LIMITAÇÕES DO PROCESSO

A contaminação da água, da vidraria, do ambiente e/ou da amostra com Amônia pode levar a resultados falsamente elevados.

INTERFERENTES

Algumas drogas, como Aminoglicosídeos, Cefalosporinas, Alopurinol, Metildopa, Furosemida e Propranolol, podem produzir interferências nos resultados, elevando os valores de Ureia. Hemólise moderada e Bilirrubina até 20 mg/dL não produzem alterações significativas nos resultados.

CONTROLE INTERNO DE QUALIDADE

O Laboratório Clínico deve possuir um programa interno de controle da qualidade, onde procedimentos, normas, limites e tolerância para variações sejam claramente estabelecidos. É importante ressaltar que todos os sistemas de medição apresentam uma variabilidade analítica característica, que deve ser monitorada pelos próprios laboratórios. Para tanto, é recomendável a utilização de controles, que permitem avaliar a precisão e a exatidão das dosagens.

RASTREABILIDADE

O padrão do kit é rastreável ao material de referência SRM 912A do NIST (National Institute of Standards and Technology).

VALORES DE REFERÊNCIA

Os valores de referência para o presente método foram obtidos através da determinação de Ureia em populações sadias do sexo masculino e feminino.

Soro ou Plasma	
1 dia - 12 meses	2 - 34 mg/dL
1 - 13 anos	8 - 36 mg/dL
Adultos	15 – 40 mg/dL
Urina	
Todas as idades	26 - 43 g/24h

Para converter os valores de mg/dL em mmol/L (SI) multiplicar por 0,166.
Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa de valores de referência, de acordo com a população atendida.
Os resultados fornecidos por este kit devem ser interpretados pelo profissional médico responsável, não sendo o único critério para a determinação do diagnóstico e/ou tratamento do paciente.

DESEMPENHO DO PRODUTO
CONTROLE DE QUALIDADE

Exatidão
COMPARAÇÃO DE MÉTODOS E ESPECIFICIDADE METODOLÓGICA
O kit Ureia Enzimática foi comparado com outro método para dosagem de Ureia, comercialmente disponível. Foram realizadas 07 análises e os resultados foram avaliados. A equação linear obtida foi Y = 0,973X + 1,466 e o coeficiente de correlação 0,999. Com estes resultados, pode-se concluir que o kit apresenta boa especificidade metodológica.

Precisão
REPETIBILIDADE
A repetibilidade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração média (mg/dL)	24,90	37,85	46,00
Desvio Padrão (mg/dL)	0,79	0,75	0,79
Coefficiente de variação (%)	3,16	1,97	1,73

REPRODUTIBILIDADE

A reprodutibilidade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas durante 3 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração média (mg/dL)	24,95	37,88	45,98
Desvio Padrão (mg/dL)	0,18	0,15	0,18
Coefficiente de variação (%)	0,72	0,40	0,38

Sensibilidade

A sensibilidade foi calculada a partir de 20 determinações de uma amostra isenta de Ureia. A média encontrada foi 0,0225 mg/dL, com desvio padrão de 0,0005 mg/dL. A sensibilidade, que indica o limite de detecção do método, corresponde a média mais 3 vezes o desvio padrão, e é igual a 0,024 mg/dL.

Linearidade

A reação é linear até 250 mg/dL. Para amostras com valores acima de 250 mg/dL, recomenda-se diluir a amostra com água destilada ou deionizada, repetir a dosagem e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

A Ureia, principal produto do catabolismo das proteínas e aminoácidos, tem sua concentração sérica afetada pela dieta e pelo estado de hidratação, constituindo uma indicação grosseira do estado da função renal.
Valores aumentados de Ureia plasmática podem ter causas pré-renais, renais ou pós-renais. Causa pré-renal: resultante de defeitos de excreção, observada na descompensação cardíaca, choque hemorrágico, desidratação aguda, catabolismo protéico elevado (queimaduras, febre). Causa renal: consequência de doença renal aguda ou crônica (glomerulonefrite, pielonefrite, necrose tubular) com diminuição da filtração glomerular, podendo ser observado níveis plasmáticos de Ureia de 300 mg/dL ou mais. Causa pós-renal: geralmente resultante de uma obstrução do trato urinário, podendo ocorrer nas litíases renais e nos tumores por compressão da bexiga.
A diminuição da Ureia sérica ocorre apenas em poucas situações, como na insuficiência hepática aguda, na inanição e no último trimestre da gravidez.

NÚMERO DE TESTES
500 Testes / 10 µL de Amostra / 2 mL de Reagente

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS
1 - BERTHELOT, M. P. E., Clin. Appl., 1968, 284.
2 - BALLETER, W. D. E.; BUSITMAN, C. S.; TIDWELL, P. W., Anal. Chim., 33-59.
3 - WINDMANN, F. K.; TURNER, K., Clin. Chem, 1987, 21:1754-1770.
4 - BERGMAYER, HU., Methods of Enzymatic Analysis, vol. 9, VCH Publishers, 1985, 449-453.
5 - 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.
6 - QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

GARANTIA DE QUALIDADE

Antes de serem liberados para o consumo, todos os reagentes **Bioclin** são testados pelo Departamento de Controle de Qualidade. A qualidade dos reagentes é assegurada até a data de validade mencionada na embalagem de apresentação, desde que armazenados e transportados nas condições adequadas.

 **QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda**
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Tel.: (31) 3439.5454
E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

EC	REP
----	-----

OBELIS S.A.

Bd. Général Wahis, 53
1030 Brussels, Belgium

ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

Serviço de Assessoria ao Cliente
Tel.: 0800 0315454
E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de registro do kit de Ureia Enzimática na ANVISA: 10269360101

Revisão: Julho/2020

SIMBOLOGIA UNIVERSAL

NÚMERO DE CATÁLOGO

NÚMERO DO LOTE

DATA DE FABRICAÇÃO

DATA DE VALIDADE
(último dia do mês)

LIMITE DE TEMPERATURA
(conservar a)

O CONTEÚDO É SUFICIENTE
PARA <N> TESTES

CONSULTAR INSTRUÇÕES
DE USO

PRODUTO PARA
DIAGNÓSTICO IN VITRO

EC	REP
----	-----

 REPRESENTANTE
EUROPEU AUTORIZADO

PROTEGER DA
LUZ E CALOR

FABRICADO POR

CONTROL

 CONTROLE

CONTROL +

 CONTROLE POSITIVO

CONTROL -

 CONTROLE NEGATIVO

RISCO BIOLÓGICO

INFLÂMÁVEL

CORROSIVO

TÓXICO

MARCA CE

NÃO UTILIZAR SE A
EMBALAGEM ESTIVER
DANIFICADA



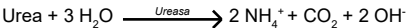
FINALIDAD

Método para la determinación de la Urea en muestras de suero, plasma (EDTA, Heparina o Citrato) y Orina. Test enzimático colorimétrico, solamente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO DE ACCIÓN

Metodología: Enzimático Colorimétrico

La Urea es hidrolizada a iones Amonio y CO₂, por la Urease



En pH alcalino y en la presencia de Salicilato y Hipoclorito de Sódio, el Amonio origina un compuesto verdeado, cuya intensidad de color es proporcional a la concentración de Urea en la muestra analizada.

REACTIVOS

Número 1 - Patrón - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Urea 70,0 mg/dL y acidificante.

Número 2 - Enzima - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Tampón Fosfato < 100 mmol/L, Ácido Mercaptosuccínico < 0,18 mmol/L, Albúmina < 60 mmol/L, EDTA Sal Dissódico < 5 mmol/L, Ureasa < 500 KU, estabilizantes y conservante.

Número 3 - Tampón Estoque - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Tampón Fosfato < 100 mmol/L, Nitroprusiato de Sodio < 38 mmol/L, estabilizantes y conservante.

Número 4 - Oxidante Estoque - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Hidróxido de Sódio < 3,0 mol/L y Hipoclorito de Sódio < 2%.

PRESENTACIÓN

REACTIVO	VOLUMEN
Nº 1	3 mL
Nº 2	25 mL
Nº 3	100 mL
Nº 4	50 mL

EQUIPAMIENTOS E INSUMOS OPERACIONALES

Espectrofotómetro o colorímetro, banho maria 37°C, reloj o cronómetro, pipetas, tubos de ensayo, globo volumétrico, Biocontrol N y Biocontrol P Bioclin. Estos itens se encuentran en el mercado especializado en artículos para Laboratorios de Análisis Clínicos.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

La temperatura de almacenamiento deberá ser de 2 a 8°C. El transporte, a temperaturas hasta 30°C, no deberá exceder 5 días. Mantener al abrigo de la luz e evitar humedad. **No congelar.**

CUIDADOS ESPECIAIS

- 1- **Solamente para el uso diagnóstico *in vitro* profesional.**
- 2- Seguir con rigor la metodología propuesta para obtención de resultados exactos.
- 3- El agua utilizada en la limpieza del material debe ser reciente e exenta de agentes contaminantes.

- 4- Columnas deionizadoras saturadas liberan agua alcalina, iones diversos y agentes oxidantes y reductores, que pueden alterar de forma significativa los resultados.
- 5- Metales pesados y fluoruro (encima de 2 mg/dL) son inhibidores de la Urease.
- 6- No fumar próximo al local donde se realizan las dosificaciones, pues el humo contiene vapores de Amonio que contaminan la muestra, llevando a valores falsamente aumentados.
- 7- El Reactivo Nº 4 es cáustico; manosearlo con cuidado. El Reactivo Nº 2 contiene Azida Sódica, irritante para la piel y mucosas.
- 8- Se recomienda la aplicación de la ley local, estatal y federal de protección ambiental para la eliminación de reactivos y material biológico se hace de acuerdo con la legislación vigente.
- 9- Para obtener información relacionada con la seguridad biológica o en caso de accidentes con el producto, consultar la FISPQ (Ficha de Informaciones de la Seguridad de Productos Químicos) disponibles en el site www.bioclin.com.br o solicitando a través del SAC (Servicio de Asesoría al Cliente) de Quibasa.
- 10- No utilice el producto en caso de daños en su embalaje.
- 11- Es esencial que los instrumentos y equipos utilizados estén adecuadamente calibrados y sometidos a mantenimientos periódicos.

MUESTRAS

Suero, plasma (colectado on EDTA, Heparina o Citrato) y Orina. No utilizar anticoagulantes conteniendo amonio. La muestra de Suero o Plasma es estable por 7 días entre 2 y 8°C ⁵, y 3 meses a -20°C. La muestra de Orina es estable durante 7 días entre 2 y 8°C y 4 semanas a -20°C. ⁵

Para dosificación de la Urea en la orina, colectar muestra de 24 horas en frasco conteniendo 2,0 mL de HCl a 50% (V/V). Centrifugar la muestra antes de iniciar la técnica y proceder el análisis dentro de pocas horas, pues la Urea excretada en la orina es facilmente descompuesta por acción bacteriana.

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

PREPARO DEL TAMPÓN DE TRABAJO

Adicionar el contenido del Reactivo Nº 3 (Tampón Estoque - 100 mL) en 400 mL de agua destilada o deionizada y homogenizar bien. Almacenar en frasco ámbar bien cerrado. El Tampón de Trabajo es estable 12 meses entre 2 y 8°C.

PREPARO DEL REACTIVO DE TRABAJO

Adicionar 1 parte del Reactivo Nº 2 (Enzima) en 20 partes del Tampón de Trabajo y homogenizar bien. Ejemplo: Adicionar 1,0 mL del Reactivo Nº 2 en 20 mL del Tampón de Trabajo y homogenizar. Almacenar en frasco ámbar. Estable 20 días, entre 2 y 8°C.

PREPARO DEL OXIDANTE DE TRABAJO

Diluir el Reactivo Nº 4 (Oxidante Estoque) em 450 mL de agua destilada o deionizada. Almacenar en frasco plástico. Estable 12 meses entre 2 y 8°C.

TÉCNICA

La Bioclin recomienda, para uso del kit, utilizar como suero control los kits Biocontrol N y Biocontrol P Bioclin. La estabilidad de calibración del kit de Urea Enzimática instalado en equipos refrigerados es de al menos 20 días. Esta estabilidad puede variar según las condiciones de la prueba, el equipo y el entorno. Por lo tanto, se sugiere seguir el rendimiento del producto utilizando sueros de control. Marcar 3 tubos de ensayo como B (Blanco), M (Muestra) y P (Patrón), y proceder como sigue:

	Blanco	Patrón	Muestra
Muestra	---	---	10 µL
Reactivo Nº 1	---	10 µL	---
Reag. Trabajo	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL
Homogenizar y colocar en baño maría 37°C, por 5 minutos			
Oxidante de Trabajo	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL
Homogenizar y colocar en baño maría 37°C, por 5 minutos.			

Leer la absorbancia de la Muestra y del Patrón en 600 nm (570 - 610 nm), acertando el cero con el Blanco. El color es estable por 60 minutos. Para dosificación de urea en la orina, seguir la técnica encima, utilizando muestra diluida 1 : 50 (100 µL de orina + 4,9 mL de agua destilada o deionizada). Multiplicar el resultado obtenido por 50.

CÁLCULOS

Urea (mg/dL) = $\frac{\text{Absorbancia de la Muestra}}{\text{Absorbancia del Patrón}} \times 70$

Como la reacción sigue la Ley de Lambert-Beer, el Factor de Calibración puede ser usado.

Factor de Calibración = $\frac{\text{Concentración del Patrón (70mg/dL)}}{\text{Absorbancia del Patrón}}$

Urea (mg/dL) = Absorbancia de la Muestra x Factor de Calibración

Orina

Urea (g/24h) = $\frac{\text{Abs. del Test} \times \text{Factor} \times 50 \times \text{Volumen (L)}}{100}$

Los resultados para suero o plasma serán expresados en mg/dL y para orina en g/24h.

LIMITACIONES DEL PROCESO

La contaminación del agua, de la vidrieria, del ambiente e/o de la muestra con Amonio puede llevar a resultados falsamente elevados.

INTERFERENTES

Algunas drogas, como Aminoglicosídeos, Cefalosporinas, Alopurinol, Metildopa, Furosemida y Propranolol, pueden producir interferencias en los resultados, elevando los valores de Urea. Hemólisis moderada y Bilirrubina hasta 20 mg/dL no producen alteraciones significativas en los resultados.

CONTROL INTERNO DE CALIDAD

El Laboratorio Clínico debe poseer un programa interno de control de calidad, donde procedimientos, normas, límites y tolerancia para variaciones sean claramente establecidos. Es importante resaltar que todos los sistemas de medición presentan una variabilidad analítica característica, que debe ser vigilada por los propios laboratorios. Por lo tanto, es recomendable la utilización de controles, que permiten la evaluación, la precisión y la exactitud de las dosificaciones.

TRACEABILIDAD

El patrón del kit es trazable al material de referencia SRM 912A del NIST (National Institute of Standards and Technology).

VALORES DE REFERENCIA

Los valores de referencia para el presente método fueron obtenidos a través de la determinación de urea en poblaciones sanas del sexo masculino y femenino.

Suero o Plasma	
1 día - 12 mes	2 - 34 mg/dL
1 - 13 años	8 - 36 mg/dL
Adultos	15 - 40 mg/dL
Orina	
Todas las edades	26 - 43 g/24h

Para convertir los valores de mg/dL en mmol/L (SI) multiplicar por 0,166.
Estos valores deben ser usados como orientación, siendo que cada laboratorio deberá crear su rango de valores de referencia, de acuerdo con la población atendida.
Los resultados proporcionados por este kit deben ser interpretados por el profesional médico responsable, no siendo el único criterio para determinar el diagnóstico y/o tratamiento del paciente.

DESEMPEÑO DEL PRODUCTO
CONTROL DE CALIDAD

Exactitud
COMPARACIÓN DE METODOS Y ESPECIFICIDAD METODOLÓGICA
El kit Urea Enzimática fue comparado con otro método para dosificación de Urea comercialmente disponible. Fueron realizadas 07 análisis y los resultados fueron evaluados. La ecuación linear obtenida fue Y = 0,973X + 1,466 y el coeficiente de correlación 0,999. Con estos resultados se puede concluir que el kit presenta buena especificidad metodológica.

Precisión
REPETIBILIDAD

La repetibilidad fue calculada a partir de 20 determinaciones sucesivas, utilizando 3 muestras con concentraciones diferentes, obteniéndose los siguientes resultados:

	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Concentración Promedio (mg/dL)	24,90	37,85	46,00
Desvío Patrón (mg/dL)	0,79	0,75	0,79
Coefficiente de Variación (%)	3,16	1,97	1,73

REPRODUCTIBILIDAD

La reproductibilidad fue calculada a partir de 20 determinaciones sucesivas durante 3 días consecutivos, utilizando 3 muestras con concentraciones diferentes, obteniéndose los siguientes resultados:

	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Concentración Promedio (mg/dL)	24,95	37,88	45,98
Desvío Patrón (mg/dL)	0,18	0,15	0,18
Coefficiente de Variación (%)	0,72	0,40	0,38

Sensibilidad

La sensibilidad fue calculada a partir de 20 determinaciones de uma muestra exenta de la presencia del Urea. El promedio encontrado fue 0,0225 mg/dL, con desvío patrón de 0,0005 mg/dL. La sensibilidad, que indica el límite de detección del método, corresponde el promedio más 3 veces el desvío patrón y es igual a 0,024 mg/dL.

Linealidad

La reacción es linear hasta 250 mg/dL. Para muestras con valores encima de 250 mg/dL, se recomienda diluir la muestra con agua destilada o deionizada, repetir la dosificación y multiplicar el resultado obtenido por el factor de dilución.

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

La Urea, principal producto del catabolismo de las proteínas y aminoácidos, tiene su concentración sérica afectada por la dieta y por el estado de hidratación, constituyendo una indicación grosera del estado de la función renal.
Valores aumentados de Urea plasmática pueden tener causas prerenales, renales o posrenales. Causa prerenal: resultante de defectos de excreción, observada en la descompensación cardíaca, chock hemorrágico, deshidratación aguda, catabolismo protéico elevado (quemaduras, fiebre). Causa renal: consecuencia de dolencia renal aguda o crónica (glomerulonefritis, pielonefritis, necrosis tubular) con disminución de la filtración glomerular, pudiendo ser observado niveles plasmáticos de Urea de 300 mg/dL o más. Causa posrenal: generalmente resultante de una obstrucción del trato orinário, pudiendo ocurrir en las litiasis renales y en los tumores por compresión de la vejiga.
La disminución de la Urea sérica ocurre apenas en pocas situaciones, como en la insuficiencia hepática aguda, en la inanición y en el último trimestre del embarazo.

NÚMERO DE PRUEBAS
500 Pruebas / 10 µL de Muestra / 2 mL de Reactivo

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - BERTHELOT, M. P. E., Clin. Appl., 1968, 284.
- 2 - BALLETER, W. D. E.; BUSITMAN, C. S.; TIDWELL, P. W., Anal. Chim., 33-59.
- 3 - WINDMANN, F. K.; TURNER, K., Clin. Chem, 1987, 21:1754-1770.
- 4 - BERGMAYER, HU., Methods of Enzymatic Analysis, vol. 9, VCH Publishers, 1985, 449-453.
- 5 - 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.
- 6 - QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

GARANTÍA DE CALIDAD

Antes de ser liberado para el consumo, todos los reactivos **Bioclin** son testados por el Departamento de Control de Calidad. La calidad de los reactivos es asegurada hasta la fecha de validad mencionada en el embalaje de presentación, desde que sean almacenados y transportados en las condiciones adecuadas.



QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda
Rua Teles de Menezes, 92 – Santa Branca
CEP 31565-130 – Belo Horizonte – MG – Brasil
Tel.: +55 (31) 3439.5454
E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 – Indústria Brasileira

EC

REP

OBELIS S.A.
Bd. Général Wahis, 53
1030 Brussels, Belgium

ATENDIMIENTO AL CONSUMIDOR
Servicio de Asesoría al Cliente
Tel.: 0800 0315454
E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de registro en del kit de Urea Enzimática la ANVISA: 10269360101

Revisión: Julio/2020



NÚMERO DEL CATÁLOGO



NÚMERO DE LOTE



FECHA DE FABRICACIÓN



ESTABLE HASTA
(último día del mês)



TEMPERATURA LIMITE
(conservar a)



CONTENIDO SUFICIENTE
PARA <N> TESTES



CONSULTAR INSTRUCCIONES
DE USO



DISPOSITIVO DE
DIAGNÓSTICO IN VITRO

EC

REP

EUROPEA REPRESENTANTE
AUTORIZADO



PROTEGER DEL
LUZ Y CALOR



ELABORADO POR



CONTROL



CONTROL POSITIVO



CONTROL NEGATIVO



RIESGO BIOLÓGICO



INFLAMABLE



CORROSIVO



TÓXICO



MARCADO CE



NO UTILICE SI EL
EMBALAJE ESTA
DAÑADA

UREA ENZYMATIC

[REF] K047

USAGE INSTRUCTIONS

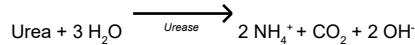
FUNCTION

Method for determination of Urea in samples of serum, plasma (EDTA, Heparin or Citrate) and Urine. Enzymatic colorimetric test, only for *in vitro* diagnostic.

PRINCIPLE OF ACTION

Methodology: Enzymatic Colorimetric

The Urea is hydrolyzed by Ammonium ions and CO₂ by Urease.



In alkaline pH and in presence of Salicylate and Sodium Hypochloride, the Ammonia originates a greenish compound, which color intensity is proportional to the Urea concentration in the analyzed samples.

REAGENTS

Number 1 - Standard - Store between 2 and 8°C. Contains: Urea 70.0 mg/dL and acidifying.

Number 2 - Enzyme - Store between 2 and 8°C. Contains: Phosphate Buffer < 100 mmol/L, Mercaptosuccinic Acid < 0.18 mmol/L, Albumin < 60 mmol/L, EDTA Dissodate Salt < 5 mmol/L, Urease < 500 KU, stabilizers and preservative.

Number 3 - Buffer Stock - Store between 2 and 8°C. Contains: Phosphate Buffer < 100 mmol/L, Sodium Nitroprusside < 38 mmol/L, stabilizers and preservative.

Number 4 - Oxidizing Stock - Store between 2 and 8°C. Contains: Sodium Hydroxide < 3.0 mol/L and Sodium Hypochloride < 2%.

PRESENTATION

REAGENT	VOLUME
Nº 1	3 mL
Nº 2	25 mL
Nº 3	100 mL
Nº 4	50 mL

EQUIPMENTS AND OPERATIONAL INPUTS

Spectrophotometer or colorimeter, water-bath at 37°C, watch and stopwatch, pipettes, test tubes, volumetric flask and Biocontrol N e Biocontrol P Bioclin. These itens are found at markets specialized on Laboratories of Clinical Analysis.

TRANSPORTATION AND STORAGE CONDITIONS

The storage temperatures shall be between 2 and 8°C. The transport temperatures up to 30°C should not exceed 5 days. Protect from light and avoid moisture. **Do not freeze.**

SPECIAL CARE

1- For professional *in vitro* diagnostic use only.

2- Strictly follow the methodology proposed to obtain exact results.

3- Water used in material cleaning must to be recent and free of contaminants.

4- Saturated deionizer columns release alkaline water, many ions, oxidizing agents and reducers that may alter the results significantly.

5- Heavy Metal and fluoride (above 2 mg/dL) are Urease inhibitors.

6- Do not smoke next to the dosage area, because the smoke contain Ammonia steam who contaminate the sample, leading to fake increased values.

7- The Reagent Nº 4 is caustic, handle carefully. The Reagent Nº 2 contain Sodium Azide, irritating to skin and mucous membrane.

8- We recommend applying the local, state and federal rules for environmental protection, so that disposal of reagents and biological material can be made in accordance with current legislation.

9- To obtain information related to biosafety or in case of accidents with the product, consult the MSDS (Material Safety Data Sheet) available on the website www.bioclin.com.br or upon request by the SAC (Customer Advisory Service) of Quibasa.

10- Do not use the product in case of damaged packaging.

11- It is essential that the instruments and equipments used are properly calibrated and subjected to periodic maintenance.

SAMPLE

Serum, plasma (EDTA, Heparin or Citrate) and Urine.

Do not use anticoagulants containing ammonia.

The Serum or Plasma sample is stable for 7 days at 2 to 8°C⁵, and 3 months at -20°C.

Urine sample is stable for 7 days at 2 to 8°C and 4 weeks at -20°C.⁵

To dose Urea in urine, collect the 24 hours sample in a flask containing 2.0 mL of HCl at 50% (V/V). Centrifuge the sample before technique begins and proceed the analysis in a few hours, because the urine excrement urea is easily decomposed by bacterial action.

PROCESS DESCRIPTION

PREPARATION OF WORKING BUFFER

Add the contend of the Reagent Nº 3 (Buffer Stock - 100 mL) in 400 mL of distilled or deionized water and homogenize well. Store in amber flask well sealed. The working buffer is stable for 12 months between 2 and 8°C.

PREPARATION OF WORKING REAGENT

Add 1 share of Reagent Nº 2 (Enzyme) in 20 parts of Working Buffer and homogenized it well. Example: Add 1.0 mL of Reagent Nº 2 in 20 mL of Working Buffer and homogenize it. Store in an amber flask. It is stable for 20 days between 2 and 8°C.

PREPARATION OF WORKING OXIDIZING

Dilute the Reagent Nº 4 (Oxidizing Stock) in 450 mL of distilled or deionized water. Keep it in an amber flask. Stable for 12 months between 2 and 8°C.

TECHNIQUE

Bioclin recommends, as control serum, Biocontrol N and Biocontrol P Bioclin Kits.

The calibration stability of the Urea Enzymatic kit installed on refrigerated equipment is at least 20 days. This stability may vary depending on the conditions of the test, equipment and environment. Therefore, it is suggested to follow the product performance using control serum.

Mark 3 test tubes with letters B (Blank), A (Sample) and P (Standard), and proceed as follows:

	Blank	Standard	Sample
Sample	---	---	10 µL
Reagent Nº 1	---	10 µL	---
Working Reagent	1.0 mL	1.0 mL	1.0 mL
Homogenize and place in water-bath at 37°C, for 5 minutes.			
Working Oxidizing	1.0 mL	1.0 mL	1.0 mL
Homogenize and place in water-bath at 37°C, for 5 minutes.			

Read sample and standard absorbance at 600 nm (570 - 610 nm), matching the zero with Blank. The color is stable for 60 minutes. For the dosage of urea in urine, follow the described technique, using diluted sample 1:50 (100 µL of urine + 4.9 mL of distilled or deionized water). Multiply the obtained result by 50.

CALCULATIONS

$$\text{Urea (mg/dL)} = \frac{\text{Sample Absorbance}}{\text{Standard Absorbance}} \times 70$$

The reaction follows the Lambert Beer Law, it can use the Calibration Factor:

$$\text{Calibration Factor} = \frac{\text{Standard Concentration (70mg/dL)}}{\text{Standard Absorbance}}$$

$$\text{Urea (mg/dL)} = \text{Sample Absorbance} \times \text{Calibration Factor}$$

Urine

$$\text{Urea (g/24h)} = \frac{\text{Test Absorbance} \times \text{Factor X 50 X Volume (L)}}{100}$$

The results for serum or plasma will be express in mg/dL and for urine in g/24h.

PROCEDURE LIMITATIONS

The water, contamination of glassware, environment and/or from sample with Ammonia can lead to fake elevated results.

INTERFERENT

Some drugs, such as Aminoglycosides, Cephalosporins, Allopurinol, Methyl dopa, Furosemide and Propranolol, can interfere on the results, elevating the urea values.

Moderate hemolysis and Bilirubin up to 20 mg/dL do not interfere significantly in the results.



INTERNAL QUALITY CONTROL

The Clinical Laboratory must have an internal quality control, where all procedures, rules, limits and tolerance to variations be clearly established. It is important to mention that all measurement systems present a analytical variety, and it must be monitor by the laboratory. Therefore, it is recommendable the use of controls, allowing the precision and accuracy of the dosages.

TRACEABILITY

The kit's standard is traceable to the reference material NIST (National Institute of Standards and Technology) SRM 912A.

REFERENCE VALUES

The reference values for this method were obtained through the determination of urea in healthy populations of male and female.

Serum or Plasma	
1 day - 12 months	2 - 34 mg/dL
1 - 13 years	8 - 36 mg/dL
Adults	15 – 40 mg/dL
Urine	
All ages	26 - 43 g/24h

To convert the mg/dL values to mmol/L (SI) multiply by 0.166. These values should be used as guidelines, each laboratory should establish its range of reference values, according to the population served. The results provided by this kit must be interpreted by the medical professional responsible, not being the only criterion for the determination of diagnosis and/or treatment of the patient.

PRODUCT PERFORMANCE

QUALITY CONTROL

Accuracy

COMPARISON OF METHODS AND METHODOLOGICAL SPECIFICITY

The Urea Enzymatic kit was compared with other commercially available methods for measurement of Urea Enzymatic. 07 analyzes were performed and the results were evaluated. The linear equation obtained was $Y = 0.973X + 1.466$ and the correlation coefficient 0.999. With these results, we can conclude that the kit shows good methodological specificity.

Precision

REPEATABILITY

The repeatability was calculated from 20 successive determinations, using 3 samples with different concentrations, obtaining the following results:

	Sample 1	Sample 2	Sample 3
Average Concentration(mg/dL)	24.90	37.85	46.00
Standard Deviation (mg/dL)	0.79	0.75	0.79
Coefficient of Variation (%)	3.16	1.97	1.73

REPRODUCIBILITY

The reproducibility was calculated from 20 successive determinations for 3 consecutive days, using 3 samples with different concentrations, obtaining the following results:

	Sample 1	Sample 2	Sample 3
Average Concentration(mg/dL)	24.95	37.88	45.98
Standard Deviation (mg/dL)	0.18	0.15	0.18
Coefficient of Variation (%)	0.72	0.40	0.38

Sensitivity

The sensitivity was calculated from 20 determinations of Urea. The average found was 0.0225 mg/dL, with standard deviation of 0.0005 mg/dL. The sensitivity, which indicates the detection limit of the method corresponds the average plus 3 times the standard deviation, and is equal to 0.024 mg/dL.

Linearity

The reaction is linear up to 250 mg/dL. For sample with value above 250 mg/dL, we recommend the sample dilution with deionized or distilled water, repeat the dosage and multiply the obtained value by the dilution factor.

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE

The Urea, main product of proteins and amino acids catabolism, have its serum concentration affected by diet and by hydration states, constituting an rough indication of the kidney function condition.

Increased values of plasmatic urea may be originated from pre-kidney, kidney and post kidney causes. Pre Kidney cause: result of excrement malfunction, observed in the decompensate heart, hemorrhagic shock, acute dehydration, elevated protein catabolism (burns, fever). Kidney cause: consequence of the acute or chronic kidney disease (glomerulonephritis, pyelonephritis, tubular necroses) with reduced glomerular filtration, where we could observe plasmatic levels of urea 300 mg/dL or more. Post kidney: generally resultant of an urinary tract obstruction, being common in kidney lithiasis, and in tumors by bladder compression.

The decrease of serum urea occurs only in a few situations, such as acute hepatic insufficiency, in inanition, and in last trimester pregnancy.

NUMBER OF TESTS

500 Tests / 10 μ L of Sample / 2 mL of Reagent

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

- 1 - BERTHELOT, M. P. E., Clin. Appl., 1968, 284.
- 2 - BALLETER, W. D. E.; BUSITMAN, C. S.; TIDWELL, P. W., Anal. Chim., 33-59.
- 3 - WINDMANN, F. K.; TURNER, K., Clin. Chem, 1987, 21:1754-1770.
- 4 - BERGMAYER, HU., Methods of Enzymatic Analysis, vol. 9, VCH Publishers, 1985, 449-453.
- 5 - 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.
- 6 - QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

QUALITY ASSURANCE

Before being released for consumption, all **Bioclin** reagents are tested by the Department of Quality Control. The quality of reagents is assured until expiration date stated on the presentation packaging, when stored and transported under appropriate conditions.



QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda

Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Phone.: +55 (31) 3439.5454
E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Made in Brazil

EC REP **OBELIS S.A.**

Bd. Général Wahis, 53
1030 Brussels, Belgium

CUSTOMER SERVICE

Customer Advisory Service
Phone: 0800 0315454
E-mail: sac@bioclin.com.br

ANVISA registration for the Urea Enzymatic kit: 10269360101

Review: July/2020

UNIVERSAL SYMBOLOGY



CATALOG NUMBER



MANUFACTURED BY



BATCH CODE



CONTROL



DATE OF MANUFACTURE



POSITIVE CONTROL



USED BY
(last day of month)



NEGATIVE CONTROL



TEMPERATURE LIMITATION
(store at)



BIOLOGICAL RISK



CONTAINS SUFFICIENT
FOR <N> TESTS



INFLAMMABLE



CONSULT INSTRUCTIONS
FOR USE



CORROSIVE



IN VITRO DIAGNOSTIC DEVICE



POISON



EUROPEAN AUTHORIZED
REPRESENTATIVE



CE MARK



KEEP AWAY
FROM SUNLIGHT



DO NOT USE IF
PACKAGE IS
DAMAGED