

## Utilização prevista

Para a determinação quantitativa de azoto ureico no soro utilizando os analisadores Yumizen C230 e Yumizen C240. Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*. **Rx Only**.

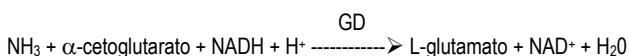
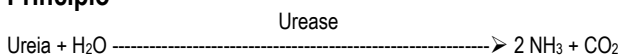
## Relevância clínica

A determinação do azoto ureico no soro é amplamente utilizada como teste de rastreio da função renal. Quando utilizado em conjunto com a determinação de creatinina no soro, é útil no diagnóstico diferencial dos três tipos de azotemia: pré-renal, renal e pós-renal.<sup>1</sup>

## História dos métodos

A ureia tem sido determinada pelo método direto<sup>2</sup>, no qual a ureia condensa com diacetilo e forma um cromogénio, e um método indireto no qual a amónia é medida como um produto da ação da urease na ureia.<sup>3</sup> A amónia libertada tem sido medida utilizando o reagente de Nessler<sup>4</sup> e através da reação de Berthelot.<sup>5</sup> Talke e Schubert introduziram um procedimento totalmente enzimático em 1965 utilizando urease e glutamato desidrogenase.<sup>6</sup> O presente procedimento baseia-se numa modificação deste último.

## Princípio



A ureia é hidrolisada pela urease para produzir amónia e dióxido de carbono. A amónia libertada reage com o  $\alpha$ -cetogluturato na presença de NADH para produzir glutamato. Um volume equimolar de NADH sofre oxidação durante a reação, resultando numa diminuição na absorvância que é diretamente proporcional à concentração de azoto ureico na amostra.

## Composição do reagente

Concentrações dos reagentes de trabalho: Urease (feijão-sabre-de-madagáscar) >15000 U/L, GLDH (bovino) >200 U/L, ADP >0,6 mM,  $\alpha$ -cetogluturato 3,4 mM, NADH >0,28 mM, tampão, estabilizadores, azida de sódio (0,28%) como conservante.

## Preparação dos reagentes

Os reagentes estão prontos a utilizar.

## Armazenamento dos reagentes

Armazene os reagentes R1 e R2 a 2-8°C. Os reagentes mantêm-se estáveis até à data de validade apresentada no rótulo, quando armazenados conforme as instruções.

## Deterioração dos reagentes

O reagente não deve ser utilizado se o reagente de trabalho tiver uma absorvância de branco de reagente inferior a 1,0 a 340 nm.

## Precauções

- Este reagente destina-se apenas a diagnóstico *in vitro*.
- Evite a ingestão de reagente, uma vez que a toxicidade ainda não foi determinada.
- Os reagentes contêm azida de sódio (0,28%) como conservante. A azida de sódio pode reagir com canalização de chumbo e cobre, formando azidas de metal explosivas. Aquando da eliminação, escoe com água abundante.
- Todas as amostras devem ser manuseadas de acordo com as boas práticas laboratoriais, utilizando as precauções adequadas conforme descrito no Manual da CDC/NIH, "Biosafety in Microbiological Biomedical Laboratories", 2.ª ed., 1988, N.º de publicação do HHS (CDC) 88-8395.

## Colheita e armazenamento de amostras

- Recomenda-se a utilização de soro.
- Não deve ser utilizado plasma com anticoagulantes.
- Todos os materiais que entrem em contacto com a amostra devem estar livres de amónia e metais pesados.<sup>7</sup>
- A ureia no soro mantém-se estável durante setenta e duas horas refrigerada a 2-8°C. Os soros não refrigerados devem ser utilizados num prazo de oito horas.
- A colheita de amostras deve ser realizada de acordo com o documento NCCLS M29-T2.<sup>8</sup> Nenhum método pode oferecer garantias absolutas de que as amostras de sangue humano não transmitirão infeções. Por conseguinte, todas as amostras de sangue devem ser consideradas potencialmente infecciosas.

## Interferências

- A ação da ureia é inibida pelo fluoreto.
- As amostras com níveis de amónia anormais fornecem resultados de BUN erradamente elevados.
- Verificou-se que a bilirrubina até ao nível de 20 mg/dL apresenta uma interferência negligenciável (<2%) neste ensaio.
- Verificou-se que a hemoglobina até ao nível de 200 mg/dL apresenta uma interferência negligenciável (<5%) neste ensaio.  
NOTA: O nível de BUN foi de 46,0 mg/dL no estudo de bilirrubina e de 46,3 mg/dL no estudo de hemoglobina.
- Para obter uma avaliação exaustiva da interferência de medicamentos, consulte Young, et al.<sup>9</sup>

## Materiais fornecidos

Reagente enzimático de azoto ureico (R1)  
 Reagente coenzimático de azoto ureico (R2)

## Materiais necessários, mas não fornecidos

- Analisador Yumizen C230/Yumizen C240
- Manual de utilização do Yumizen C230/Yumizen C240
- Calibrador de Química, número de catálogo C7506-50
- Controlo de química, número de catálogo C7592-100

## Parâmetros de teste

Teste:	Urea Nitro	Química:	Nitrogénio ureico
N.º de química:	206	Nome em letra de imprensa:	Nitrogénio ureico
Tipo de reação:	Tempo fixo	Direção de reação:	Negativo
Onda pri.:	340 nm	Onda sec.:	670 nm
Decimal.:	0	Tipo de amostra:	Soro
Tempo de branco:		Tempo de reação:	2 7
Unidade:	mg/dL	Tempo de incubação:	3

	Vol. de amostra	Aspirado	Diluído	Vol. de reagente	Diluído
Padrão;	2	uL	uL	R1: 200	uL
Diminuído;		uL	uL	R2: 50	uL
Aumentado;		uL	uL		

Intervalo de linearidade (padrão);	0-150	Limite de linearidade:	
Intervalo de linearidade (diminuído);		Redução de substrato:	
Intervalo de linearidade (aumentado);		Abs. de branco misturado:	- 40000 40000
Abs. de branco R1:	- 40000 40000	Estabilidade no equipamento:	30 Dia(s)
Resposta de branco	- 40000 40000	Limite de alarme do reagente:	5
Química dupla:			

Verificação prozona:			
Q1:	Q2:	Q3:	
Q4:	PC:	ABS:	

Utilizar resultado qualitativo:		
Intervalo:		Referência:

Desvio de declive:			
Declive	Desvio	Unit	
1	0	mg/dL	

Pré-tratamento:		
Vol. de amostra pré-tratada:	uL	Vol. de reagente pré-tratado:
		uL

Intervalo de ref.:					
Tipo de amostra:	Sexo:	Intervalo de idades:	Intervalo de ref.:	Intervalo crítico:	Unidade:

# Conjunto de Reagentes de Azoto Ureico (BUN) Pointe

## Parâmetros de configuração da calibração

Quím:	Urea Nitro	Calibrador	Conc.	Pos	N.º do lote
Definição da calibração		Água	0,0	W	
Modelo matemático: Linear de dois pontos		Cal Quim	*	*	
Fator: Réplicas: 2					
Limites de aceitação					
Tempo cal: 336 h					
Dif declive: DP:					
Sensibilidade: Repetibilidade:					* Definida pelo utilizador
Deter coef:					
Calib. auto.					
	<input type="checkbox"/> Tempo cal				

## Limitações

As amostras com valores superiores a 150 mg/dL devem ser diluídas a 1:1 com solução salina a 0,9%, novamente submetidas a ensaio e os resultados devem ser multiplicados por dois.

## Calibração

Utilize um calibrador de soro rastreável ao NIST. O procedimento deve ser calibrado de acordo com as instruções de calibração do fabricante do instrumento. Se os resultados do controlo estiverem fora do intervalo, o procedimento deve ser recalibrado.

## Cálculo (exemplo)

$(A_1 - A_2) =$  Alteração da absorvância entre leituras

$$\frac{(A_1 - A_2) \text{ desconhecido}}{(A_1 - A_2) \text{ padrão de padrão}} \times \text{concentração} = \text{BUN (mg/dL)}$$

Exemplo: Se o desconhecido tinha uma  $A_1 = 1,5$  e  $A_2 = 1,0$ , o padrão  $A_1 = 1,5$  e  $A_2 = 0,9$  e a concentração do padrão = 20 mg/dL, então:

$$\frac{(1,5 - 1,0)}{(1,5 - 0,9)} = \frac{0,5}{0,6} \times 20 = 17 \text{ mg/dL}$$

NOTA: Para obter resultados em unidades do SI, multiplique por 10 para converter dL em litros e divida por 28, o peso molecular do azoto.

Exemplo: 17 mg/dL x 10/28 = 6,06 mmol/L.

Para converter mg/dL de azoto ureico em mmol de ureia/L, multiplique o valor mg/dL de azoto ureico por 0,357.

Para converter mg/dL de azoto ureico em mg/dL de ureia, multiplique o valor mg/dL de azoto ureico por 2,14.

## Controlo da qualidade

A validade da reação deve ser monitorizada utilizando os soros de controlo com valores de BUN normais e anormais conhecidos. Estes controlos devem ser efetuados, pelo menos, em cada turno de trabalho em que sejam realizados ensaios de azoto ureico. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça a sua própria frequência de determinação de controlo. Os requisitos de controlo de qualidade devem ser executados em conformidade com os requisitos de acreditação e regulamentação local, estatal e/ou federal.

## Valores esperados

7 - 18 mg/dL<sup>7</sup>

Recomenda-se vivamente que cada laboratório estabeleça o seu próprio intervalo de referência.

## Desempenho

- Intervalo do ensaio: 0 - 150 mg/dL. As amostras que excedem 150 mg/dL devem ser diluídas com um volume igual de solução salina e novamente submetidas a ensaio. Multiplique o resultado por dois.
- Comparação: Foi realizado um estudo entre o analisador da série Yumizen 200 e um analisador semelhante utilizando este método, tendo resultado num coeficiente de correlação de 0,986 e uma equação de regressão de  $y = 0,95x + 0,6$ .
- Precisão: Foram realizados estudos de precisão utilizando o analisador da série Yumizen 200 na sequência de uma modificação das diretrizes constantes do documento NCCLS EP5-T2.<sup>10</sup>

Na mesma determinação			Entre dias		
Média	D.P.	% C.V.	Média	D.P.	% C.V.
15,6	0,5	3,2	14,1	0,8	5,7
55,3	1,2	2,1	51,1	1,8	3,5

- Sensibilidade: A sensibilidade do reagente de BUN líquido foi investigada através da leitura das alterações na absorvância a 340 nm para uma amostra de solução salina e amostras de soro com concentrações conhecidas. Foram realizadas dez réplicas de cada amostra. Os resultados desta investigação indicaram que, no analisador utilizado, o reagente de BUN líquido exibiu pouco ou nenhum desvio de reagente numa amostra zero. Nas condições de reação descritas, 1 mg/dL de BUN resulta numa absorvância de 0,003.

## Bibliografia

- Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, Philadelphia W.B. Saunders (1976).
- Fearon, W.R., Biochem J. 331:902 (1939).
- Marshall, E.K., Jr., J. Biol. Chem. 15:487 (1913).
- Gentzkow, C.J., J. Biol. Chem. 143:531 (1952).
- Fawcett, J.K., Scott, J.E., J. Clin. Path. 13:156 (1960).
- Talke, H., Schubert, G.E., Klin. Wschr. 43:174 (1965).
- Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, Philadelphia W.B. Saunders, p991 (1976).
- NCCLS document "Protection of Laboratory Workers from Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue", 2<sup>nd</sup> Ed. (1991).
- Young, D.S., et al, Clin. Chem. 21:1D (1975).
- NCCLS document "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2<sup>nd</sup> Ed. (1992).

## Legenda dos símbolos

Utilizar até (AAAA-MM-DD)	Lote e código
Número de catálogo	Fabricante
Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>	Limite de temperatura
Consulte as instruções de utilização	<b>Rx Only:</b> Utilização apenas mediante receita médica
Marcação CE	Representante autorizado na Comunidade Europeia

12-B7552-150 Fabricado por HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand 5449 Research Drive Canton, MI 48188

Fabricado por HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand  
5449 Research Drive, Canton, MI 48188

Representante Europeu Autorizado:

Obelis s.a.

Boulevard Général Wahis 53

1030 Brussels, BÉLGICA

Tel.: (32)2.732.59.54 Fax: (32)2.732.60.03 e-mail: mail@obelis.net



## Certificada para executar reagentes

Os reagentes Pointe são certificados para serem fabricados de acordo com parâmetros especificados. Qualquer produto de reagente Pointe que não cumpra as especificações até à data de validade indicada será regularizado imediatamente sem quaisquer custos.