

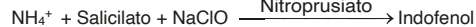
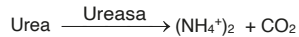
Determinación cuantitativa de urea
IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

 La ureasa cataliza la hidrólisis de la urea, presente en la muestra, en amoníaco (NH₄⁺) y anhídrido carbónico (CO₂).

Los iones amonio reaccionan con salicilato e hipoclorito (NaClO), en presencia del catalizador nitroprusiato, para formar un indófenol verde:


 La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de urea en la muestra ensayada⁶.

SIGNIFICADO CLÍNICO

La urea es el resultado final del metabolismo de las proteínas; se forma en el hígado a partir de su destrucción.

 Puede aparecer la urea elevada en sangre (uremia) en dietas con exceso de proteínas, enfermedades renales, insuficiencia cardíaca, hemorragias gástricas, hipovolemia y obstrucciones renales⁶.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R 1 Tampón	Tampón fosfatos pH 6,7 EDTA Salicilato sódico Nitroprusiato sódico	50 mmol/L 2 mmol/L 400 mmol/L 10 mmol/L
R 2 NaClO	Hipoclorito sódico (NaClO) Hidróxido sódico (NaOH)	140 mmol/L 150 mmol/L
R 3 Enzimas	Ureasa	62500 U/L
UREA CAL	Patrón primario acuoso de Urea	50 mg/dL

PRECAUCIONES

R2: H314-Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. H412-Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. Seguir los consejos de prudencia indicados en la FDS y etiqueta del producto.

PREPARACIÓN

- Reactivo de trabajo (RT): Disolver (→) una tableta del vial R3 en el frasco de R1. Tapar y mezclar suavemente hasta disolver su contenido. Estabilidad: 4 semanas a 2-8°C o 7 días a temperatura ambiente.
- El R2 NaClO está listo para su uso.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

No usar reactivos fuera de la fecha indicada. No usar las tabletas si aparecen rotas.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 580 nm ≥ 0,32.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 580 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio^(Nota 2).

MUESTRAS

- Suero o plasma heparinizado / EDTA^{1,4}.
- Orina³: Diluir la muestra 1/50 en agua destilada. Mezclar. Multiplicar el resultado obtenido por 50 (factor de dilución). En todos los tipos de muestra descritos, la urea es estable durante al menos 7 días a 2-8°C o 35 días a -20°C.

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
Longitud de onda: 580 nm
Cubeta: 1 cm paso de luz
Temperatura: 37°C / 15-25°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta.^(Nota 4)

	Blanco	Patrón	Muestra
RT (mL)	1,0	1,0	1,0
Patrón ^(Nota 1,3) (μL)	--	10	--
Muestra (μL)	--	--	10

- Mezclar e incubar 5 min a 37°C o 10 min a temperatura ambiente (15-25°C)

5. Pipetear:

	Blanco	Patrón	Muestra
R 2 (mL)	1,0	1,0	1,0

- Mezclar e incubar 5 min. a 37°C o 10 min. a temperatura ambiente.
- Leer la absorbancia (A) del patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 30 minutos a 15-25°C.

CÁLCULOS

$$\frac{(A) \text{ Muestra} - (A) \text{ Blanco}}{(A) \text{ Patrón} - (A) \text{ Blanco}} \times 50 (\text{Conc. Patrón}) = \text{mg/dL de urea en la muestra}$$

$$\text{mg/dL Urea} \times 0,466 = \text{mg/dL of Urea BUN (Blood Urea Nitrogen)}^6$$
Factor de conversión: mg/dL x 0,1665 = mmol/L.

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA⁵

Suero: 12,6 - 42,6 mg/dL (2,1 - 7,1 mmol/L)

Orina: 25,8 - 42,6 gr/24 h

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO
1. Veracidad: La veracidad se evaluó mediante una comparación del método con muestras reales. Los resultados obtenidos pueden consultarse en la próxima sección titulada.

2. Precisión: la repetibilidad y la reproducibilidad se evaluaron basándose en el protocolo EP05-A3 del CLSI:

N	Media (mg/dL)	Repetibilidad	
		SD	CV (%)
80	40,4	0,41	1,0
	113	0,23	0,2

N	Media (mg/dL)	Reproductividad	
		SD	CV (%)
90	43,8	2,64	6,0
	117	5,84	5,0

3. Sensibilidad analítica: la sensibilidad analítica observada fue de 0,00588 Abs/mg/dL a 580 nm.

4. Especificidad analítica: bilirrubina (21,2 mg/dL), triglicéridos (4097 mg/dL), hemoglobina (312 mg/dL) no interfieren. No utilizar sales de amonio como anticoagulante. Una lista de medicamentos y otras sustancias que interfieren con la determinación de urea ha sido reportada por Young et al^{7,8}.

5. Límite de detección (LoD): valores inferiores a 0,27 mg/dL dan resultados no reproducibles.

6. Rango de medición: desde el límite de cuantificación de 1,50 mg/dL hasta el límite de linealidad de 250 mg/dL. Si los resultados obtenidos son superiores al límite de linealidad, diluir la muestra 1/2 con NaCl 9 g/L y volver a analizar.

7. Comparación del método: los resultados obtenidos utilizando este reactivo (y) se compararon con los obtenidos utilizando un reactivo comercial (x) de características similares. Se analizaron 50 muestras de diferentes concentraciones de urea. El coeficiente de correlación (r) y la ecuación de regresión fueron:

$$y = 1,081 + 0,973x \quad r = 0,999$$

Los resultados de las características del método del analizador utilizado.

NOTAS

- UREA CAL: Debido a la naturaleza del producto, es aconsejable tratarlo con sumo cuidado ya que se puede contaminar con facilidad.
- El material empleado así como el agua destilada que se utilice deben estar libres de amoníaco y/o sus sales⁶.
- La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
- Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.**

BIBLIOGRAFÍA

- D. T. Selewski and J. M. Symons, "Acute kidney injury," *Pediatr. Rev.*, vol. 35, no. 1, pp. 30-41, 2014.
- L. Koppe, D. Fouque, and C. O. Soulage, "Metabolic Abnormalities in Diabetes and Kidney Disease: Role of Uremic Toxins," *Curr. Diab. Rep.*, vol. 18, no. 10, 2018.
- K. Nakamura, J. Kido, H. Mitsubuchi, and F. Endo, "Diagnosis and treatment of urea cycle disorder in Japan.," *Pediatr. Int.*, vol. 56, no. 4, pp. 506-509, 2014.
- M. Ostermann, "Diagnosis of acute kidney injury: Kidney Disease Improving Global Outcomes criteria and beyond.," *Curr. Opin. Crit. Care*, vol. 20, no. 6, pp. 581-587, 2014.
- A. H. B. Wu, Tietz clinical guide to Laboratory tests, 4th Ed. Saunders Elsevier, 2006.
- Kaplan A. Urea. Kaplan A et al. *Clin Chem The C.V. Mosby Co.* St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1257-1260 and 437 and 418.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.

PRESENTACIÓN

Ref: 1001331	Cont.	R1: 2 x 150 mL, R2: 2 x 150 mL, R3: 2 → 150 mL CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001329		R1: 5 x 50 mL, R2: 5 x 50 mL, R3: 5 → 50 mL, CAL: 1 x 5 mL

Quantitative determination of urea

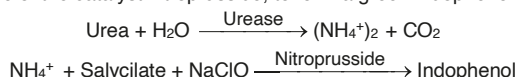
IVD

Store at 2-8°C

PRINCIPLE OF THE METHOD

Urea in the sample is hydrolyzed enzymatically into ammonia (NH₄⁺) and carbon dioxide (CO₂).

Ammonia ions formed reacts with salicylate and hypochlorite (NaClO), in presence of the catalyst nitroprusside, to form a green indophenol:



The intensity of the color formed is proportional to the urea concentration in the sample⁶.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Urea is the final result of the metabolism of proteins; it is formed in the liver from its destruction.

Elevated urea can appear in blood (uremia) in: diets with excess of proteins, renal diseases, heart failure, gastrointestinal hemorrhage, dehydration or renal obstruction⁶.

Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

REAGENTS

R 1 Buffer	Phosphate pH 6,7 EDTA Sodium salicylate Sodium nitroprusside	50 mmol/L 2 mmol/L 400 mmol/L 10 mmol/L
R 2 NaClO	Sodium hypochlorite (NaClO) Sodium hydroxide (NaOH)	140 mmol/L 150 mmol/L
R 3 Enzymes	Urease	62500 U/L
UREA CAL	Urea aqueous primary standard	50 mg/dL

PRECAUTIONS

R2: H314-Causes severe skin burns and eye damage. H412-Harmful to aquatic life with long lasting effects.

Follow the precautionary statements given in MSDS and label of the product.

PREPARATION

- Working reagent (WR): Dissolve (→) one tablet R 3 Enzymes in one bottle of R 1 Buffer. Cap and mix gently to dissolve contents.

Stability: 4 weeks in the refrigerator (2-8°C) or 7 days at room temperature (15-25°C).

- R 2 NaClO is ready to use.

STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C, protected from light and contaminations prevented during their use.

Do not use reagents over the expiration date.

Do not use the tablets if appears broken.

Signs of reagent deterioration:

- Presence of particles and turbidity.
- Blank absorbance (A) at 580 nm ≥ 0,32.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spectrophotometer or colorimeter measuring at 580 nm.
- Matched cuvettes 1,0 cm light path.
- General laboratory equipment (Note 2).

SAMPLES

- Serum or heparinized / EDTA plasma^{1,4}.

- Urine³: Dilute sample 1/50 in distilled water. Mix.

In all described sample types, urea is stable for at least 7 days at 2 - 8 °C or 35 days at -20 °C.

PROCEDURE

- Assay conditions:
Wavelength: 580 nm
Cuvette: 1 cm light path
Temperature: 37°C / 15-25°C
- Adjust the instrument to zero with distilled water.
- Pipette into a cuvette: (Note 4)

	Blank	Standard	Sample
WR (mL)	1,0	1,0	1,0
Standard ^(Note 1,3) (µL)	--	10	--
Sample (µL)	--	--	10

- Mix and incubate 5 min at 37°C or 10 min at room temperature (15-25°C).

5. Pipette:

	Blank	Standard	Sample
R 2 (mL)	1,0	1,0	1,0

6. Mix and incubate 5 min at 37°C or 10 min at room temperature (15-25°C).

7. Read the absorbance (A) of the samples and calibrator, against the Blank. The colour is stable for at least 30 minutes at 15-25°C.

CALCULATIONS

(A) Sample – (A) Blank
(A) Standard – (A) Blank

mg/dL Urea x 0,466 = mg/dL Urea BUN (Blood Urea Nitrogen)⁶.

Conversion factor: mg/dL x 0,1665 = mmol/L.

QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures: SPINTROL H Normal and Pathologic (Ref. 1002120 and 1002210).

If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and calibrator for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

REFERENCE VALUES⁵

Serum : 12.6 - 42.6 mg/dL (2.1 - 7.1 mmol/L)

Urine : 25.8 - 42.6 gr/24 h

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

1. Trueness: Trueness was assessed by a method comparison with real samples. The obtained results can be consulted in the upcoming section titled.

2. Precision: repeatability and reproducibility were evaluated based on the CLSI protocol EP05-A3:

N	Mean (mg/dL)	Repeatability	
		SD	CV (%)
80	40.4	0.41	1.0
	113	0.23	0.2

N	Mean (mg/dL)	Reproducibility	
		SD	CV (%)
90	43.8	2.64	6.0
	117	5.84	5.0

3. Analytical sensitivity: the observed analytical sensitivity was 0.00588 Abs/mg/dL at 580 nm.

4. Analytical specificity: bilirubin (21.2 mg/dL), triglycerides (4097 mg/dL), hemoglobin (312 mg/dL) do not interfere. Do not use ammonium salts as anticoagulant. A list of drugs and other interfering substances with urea determination has been reported by Young et. al^{7,8}.

5. Limit of detection (LoD): values less than 0.27 mg/dL give non-reproducible results.

6. Measurement range: from quantitation limit of 1.50 mg/dL to linearity limit of 250 mg/dL. If the results obtained are greater than the linearity limit, then dilute the sample 1/2 with NaCl 9 g/L and retested again.

7. Method comparison: results obtained using this reagent (y) were compared to those obtained using a commercial reagent (x) with similar characteristics. 50 samples of different urea concentrations were assayed. The correlation coefficient (r) and the regression equation were:

$$y = 1.081 + 0.973x \quad r = 0.999$$

The results of the performance characteristics depend on the analyser used.

NOTES

- UREA CAL: Proceed carefully with this product because due its nature it can get contaminated easily.
- Glassware and distilled water must be free of ammonia and ammonium salts⁶.
- Calibration with the aqueous standard may cause a systematic error in automatic procedures. In these cases, it is recommended to use a serum Calibrator.
- Use clean disposable pipette tips for its dispensation.
- SPINREACT has instruction sheets for several automatic analyzers.**

BIBLIOGRAPHY

- D. T. Selewski and J. M. Symons, "Acute kidney injury," *Pediatr. Rev.*, vol. 35, no. 1, pp. 30–41, 2014.
- L. Koppe, D. Fouque, and C. O. Soulage, "Metabolic Abnormalities in Diabetes and Kidney Disease: Role of Uremic Toxins," *Curr. Diab. Rep.*, vol. 18, no. 10, 2018.
- K. Nakamura, J. Kido, H. Mitsubuchi, and F. Endo, "Diagnosis and treatment of urea cycle disorder in Japan.," *Pediatr. Int.*, vol. 56, no. 4, pp. 506–509, 2014.
- M. Ostermann, "Diagnosis of acute kidney injury: Kidney Disease Improving Global Outcomes criteria and beyond.," *Curr. Opin. Crit. Care*, vol. 20, no. 6, pp. 581–587, 2014.
- A. H. B. Wu, *Tietz clinical guide to Laboratory tests*, 4th Ed. Saunders Elsevier, 2006.
- Kaplan A. Urea. Kaplan A et al. *Clin Chem The C.V. Mosby Co.* St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1257-1260 and 437 and 418.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.

PACKAGING

Ref: 1001331	Cont.	R1: 2 x 150 mL, R2: 2 x 150 mL, R3: 2 → 150 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001329		R1: 5 x 50 mL, R2: 5 x 50 mL, R3: 5 → 50 mL, CAL: 1 x 5 mL

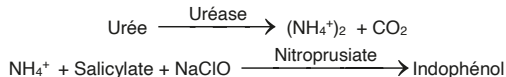
Détermination quantitative d'urée
IVD

Conserver à 2-8°C

PRINCIPE DE LA METHODE

 L'uréase catalyse l'hémolyse de l'urée, présente dans l'échantillon, en ammoniac (NH₃) et en anhydride carbonique (CO₂).

Les ions ammoniac réagissent avec salicylate et hypochlorite (NaClO), en présence du catalyseur nitroprussiate, pour former un indophénol vert:


 L'intensité de couleur formée est proportionnelle à la concentration d'urée en le test à diminution de la concentration de NAD⁺ dans la méthode est proportionnelle à la concentration d'urée dans l'échantillon testé⁶.

SIGNIFICATION CLINIQUE

L'urée est le résultat final du métabolisme des protéines; elle se forme dans le foie à partir de sa destruction.

 Il peut apparaître un taux d'urée élevé dans le sang (urémie) dans le cadre de réimpressions excessives en protéines, de maladies d'insuffisances cardiaques, d'hémorragies, d'hypovolémie et d'obstructions rénales⁶.

La diagnostic clinique doit tenir compte des données cliniques et des données de laboratoire.

REACTIFS

R 1 Tampon	Tampon phosphates pH 6,7	50 mmol/L
	EDTA	2 mmol/L
	Salicylate de sodium	400 mmol/L
	Nitroprussiate de sodium	10 mmol/L
R 2 NaClO	Hypochlorite de sodium (NaClO)	140 mmol/L
	Hydroxyde de sodium (NaOH)	150 mmol/L
R 3 Enzymes	Uréase	62500 U/L
UREA CAL	Patron primaire de détection d'urée	50 mg/dL

PRECAUTIONS

 R2: H314 - Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves.
 H412 - Nocif pour la vie aquatique avec des effets néfastes à long terme.
 Suivez les conseils de prudence donnés en SDS et étiquette.

PREPARATION

 - Réactif de travail (RT): Dissoudre (→) une tablette de R3 dans le flacon de R1.
 Refermer et mélanger doucement jusqu'à dissolution complète du contenu.
 Stabilité: 4 semaines à 2-8°C ou 7 jours à température ambiante (15-25°C).
 - Le R2 NaClO prêt à l'emploi.

CONSERVATION ET STABILITE

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette de la capsule, et si les capsules sont maintenus hermétiquement fermés à 2-8°C, à l'abri de la lumière et des sources de contamination. Ne pas utiliser les réactifs en dehors de la date indiquée.

Ne pas utiliser les tablette si apparaît cassé.

Indices de détérioration des réactifs:

- Présence de particules et turbidité.
- Absorbance (A) du blanc à 580 nm ≥ 0,32.

MATERIEL SUPPLEMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou analyseur pour lectures à 580 nm.
- Cuvettes de 1,0 cm d'éclairage.
- Equipement classique de laboratoire (Remarque 2).

ECHANTILLONS

 - Sérum ou plasma héparinisé / EDTA^{1,4}.
 - Urine³: Diluer l'échantillon à 1/50 dans de l'eau distillée; mélanger. Multiplier le résultat obtenu par 50 (facteur de dilution).
 Dans tous les types d'échantillons décrits, l'urée est stable pendant au moins 7 jours à 2 - 8 °C ou 35 jours à -20 °C.

PROCEDURE

- Conditions de test:
 Longueur d'ondes: 580 nm
 Cuvette: 1 cm d'éclairage
 Température: 37/15-25°C
- Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée
- Pipeter dans une cuvette: (Remarque 4)

	Blanc	Étalon	Echantillon
RT (mL)	1,0	1,0	1,0
Étalon (Remarque 1,3) (μL)	--	10	--
Echantillon (μL)	--	--	10

- Mélanger et incubé 5 min à 37°C ou 10 min à température ambiante.

- Pipeter:

	Blanc	Étalon	Echantillon
R 2 (mL)	1,0	1,0	1,0

- Mélanger et incubé 5 min. à 37°C ou 10 min. À température ambiante.
- Lire l'absorbance (A) du patron et l'échantillon, en comparaison avec le blanc du réactif. La couleur reste stable pendant au moins 30 minutes à 15-25°C.

CALCULS

$$\frac{(A) \text{ Échantillon} - (A) \text{ Blanc}}{(A) \text{ Étalon} - (A) \text{ Blanc}} \times 50 \text{ (Étalon conc.)} = \text{mg/dL d'urée dans l'échantillon testé}$$

$$\text{mg/dL Urée} \times 0,466 = \text{mg/dL d'Urée BUN (Blood Urea Nitrogen)}^6$$
Facteur de conversion: mg/dL x 0,1665 = mmol/L.

CONTROLE DE QUALITE

Il est conseillé d'analyser conjointement les échantillons de sérum dont les valeurs ont été contrôlées: SPINTROL H Normal et pathologique (Réf. 100210 et 1002210).

Si les valeurs se trouvent en dehors des valeurs tolérées, analyser l'instrument, les réactifs et le calibre.

Chaque laboratoire doit disposer de son propre contrôle de qualité et déterminer les mesures correctives à mettre en place dans le cas où les vérifications ne correspondraient pas aux attentes.

VALEURS DE REFERENCE

Sérum: 12,6 - 42,6 mg/dL (2,1 - 7,1 mmol/L)

Urine: 25,8 - 42,6 gr/24 h

Ces valeurs sont données à titre d'information. Il est conseillé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence.

CARACTERISTIQUES DE LA METHODE
1. Justesse: La justesse a été évaluée par une comparaison de la méthode avec des échantillons réels. Les résultats obtenus peuvent être consultés dans la section suivante intitulée.

2. Précision: la répétabilité et la reproductibilité ont été évaluées selon le protocole EP05-A3 du CLSI:

N	Moyenne (mg/dL)	Répétabilité	
		SD	CV (%)
80	40,4	0,41	1,0
	113	0,23	0,2

N	Moyenne (mg/dL)	Reproductibilité	
		SD	CV (%)
90	43,8	2,64	6,0
	117	5,84	5,0

3. Sensibilité analytique: la sensibilité analytique observée était de 0,00588 Abs/mg/dL à 580 nm.

4. Spécificité analytique: la bilirubine (21,2 mg/dL), les triglycérides (4097 mg/dL), l'hémoglobine (312 mg/dL) n'interfèrent pas. Ne pas utiliser de sels d'ammonium comme anticoagulant. Une liste de médicaments et d'autres substances interférant avec la détermination de l'urée a été rapportée par Young et al.^{7,8}.

5. Limite de détection (LD): les valeurs inférieures à 0,27 mg/dL donnent des résultats non reproductibles.

6. Plage de mesure: de la limite de quantification de 1,50 mg/dL à la limite de linéarité de 250 mg/dL. Si les résultats obtenus sont supérieurs à la limite de linéarité, diluer l'échantillon de moitié avec du NaCl 9 g/L et refaire le test.

7. Comparaison des méthodes: les résultats obtenus avec ce réactif (y) ont été comparés à ceux obtenus avec un réactif commercial (x) ayant des caractéristiques similaires. 50 échantillons de différentes concentrations d'urée ont été testés. Le coefficient de corrélation (r) et l'équation de régression sont les suivants:
 $y = 1,081 + 0,973x$ $r = 0,999$

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier suivant l'analyseur employé.

REMARQUES

- UREA CAL: Etant donné la nature du produit, manipuler avec précaution. Peut être contaminé très facilement.
- Le matériel utilisé et l'eau distillée ne doivent ni contenir d'ammonium, ni de sels⁶.
- Le calibrage au moyen du patron de détection peut donner lieu à des erreurs systématiques lors de méthodes automatiques. Dans de tels cas, il est conseillé d'utiliser des calibrages sériés.
- Utiliser des embouts de pipettes jetables propres pour diffuser le produit.
- SPINREACT dispose de consignes détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.**

BIBLIOGRAPHIE

- D. T. Selewski and J. M. Symons, "Acute kidney injury," *Pediatr. Rev.*, vol. 35, no. 1, pp. 30-41, 2014.
- L. Koppe, D. Fouque, and C. O. Soulage, "Metabolic Abnormalities in Diabetes and Kidney Disease: Role of Uremic Toxins," *Curr. Diab. Rep.*, vol. 18, no. 10, 2018.
- K. Nakamura, J. Kido, H. Mitsubuchi, and F. Endo, "Diagnosis and treatment of urea cycle disorder in Japan.," *Pediatr. Int.*, vol. 56, no. 4, pp. 506-509, 2014.
- M. Ostermann, "Diagnosis of acute kidney injury: Kidney Disease Improving Global Outcomes criteria and beyond.," *Curr. Opin. Crit. Care*, vol. 20, no. 6, pp. 581-587, 2014.
- A. H. B. Wu, *Tietz clinical guide to Laboratory tests*, 4th Ed. Saunders Elsevier, 2006.
- Kaplan A. Urea. Kaplan A et al. *Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis*. Toronto. Princeton 1984; 1257-1260 and 437 and 418.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.

PRESENTATION

 Ref: 1001331 Cont. R1: 2 x 150 mL, R2: 2 x 150 mL, R3: 2 → 150 mL
 CAL: 1 x 5 mL
 Ref: 1001329 R1: 5 x 50 mL, R2: 5 x 50 mL, R3: 5 → 50 mL,
 CAL: 1 x 5 mL

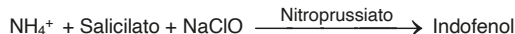
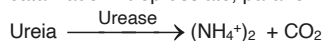
Determinação quantitativa da ureia
IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCÍPIO DO MÉTODO

 A ureíase cataliza a hidrólise da ureia, presente na amostra, em amoníaco (NH₄⁺) e anidrido carbónico (CO₂).

Os iões amónio reagem com salicilato e hipoclorito (NaClO), na presença do catalizador nitroprussiato, para formar um indofenol verde:


 A intensidade da cor formada é proporcional à concentração de ureia na amostra testada⁶.

SIGNIFICADO CLÍNICO

A ureia é o resultado final do metabolismo das proteínas; forma-se no fígado a partir da sua destruição.

 Pode aparecer a ureia elevada no sangue (urémia) em dietas com excesso de proteínas, patologias renais, insuficiência cardíaca, hemorragias gástricas, hipovolémia e obstruções renais⁶.

O diagnóstico clínico deve realizar-se tendo em atenção todos os dados clínicos e laboratoriais.

REAGENTES

R 1 Tampão	Tampão fosfatos pH 6,7	50 mmol/L
	EDTA	2 mmol/L
	Salicilato de sódio	400 mmol/L
	Nitroprussiato de sódio	10 mmol/L
R 2 NaClO	Hipoclorito de sódio (NaClO)	140 mmol/L
	Hidróxido de sódio (NaOH)	150 mmol/L
R 3 Enzimas	Urease	62500 U/L
	UREIA CAL	Padrão primário aquoso de Ureia

PRECAUÇÕES

R2: H314-Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves. H412 - Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. Seguir os conselhos de prudência dados em SDS e etiqueta.

PREPARAÇÃO

- Reagente de trabalho (RT): Dissolver (→) um comprimido do frasco R3 no frasco de R1. Tapar e misturar suavemente até dissolução do conteúdo. Estabilidade: 4 semanas a 2-8°C ou 7 dias a temperatura ambiente (15-25°C).

- O R2 NaClO está pronto a ser usado.

CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

Todos os componentes do kit são estáveis, até ao final do prazo de validade indicado no rótulo, quando mantidos nos frascos bem fechados, a 2-8°C, protegidos da luz e evitando a sua contaminação.

Não usar reagentes após a data indicada.

Não usar os tablets se parece quebrado.

Indicadores de deterioração dos reagentes:

- Presença de partículas e turvação.

- Absorvâncias do branco a 580 nm ≥ 0,32.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro ou analisador para leituras a 580 nm.

- Cuvetes de 1,0 cm de passo de luz.

 - Equipamento habitual de laboratório^(Nota 2).

AMOSTRAS

 - Soro ou plasma heparinizado / EDTA^{1,4}.

 - Urina³: Diluir a amostra 1/50 em água destilada. Misturar. Multiplicar o resultado obtido por 50 (factor de diluição).

Em todos os tipos de amostras descritos, a ureia é estável durante pelo menos 7 dias a 2 - 8 °C ou 35 dias a -20 °C.

PROCEDIMENTO

1. Condições do ensaio:

Comprimento de onda: 580 nm

Cuvete: 1 cm passo de luz

Temperatura: 37°C / 15-25°C

2. Ajustar o espectrofotómetro a zero com água destilada.

 3. Pipetar para uma cuveta.^(Nota 4)

	Branco	Padrão	Amostra
RT (mL)	1,0	1,0	1,0
Padrão ^(Nota 1,3) (μL)	--	10	--
Amostra (μL)	--	--	10

4. Misturar e incubar 5 min a 37°C ou 10 min a temperatura ambiente.

5. Pipetar:

	Branco	Padrão	Amostra
R 2 (mL)	1,0	1,0	1,0

6. Misturar e incubar 5 min. a 37°C o 10 min. a temperatura ambiente.

7. Ler a absorvância (A) do Padrão e da amostra, frente ao Branco de reagente. A cor é estável como mínimo 30 minutos a 15-25°C.

CÁLCULOS

$$\frac{(A) \text{ Amostra} - (A) \text{ Branco}}{(A) \text{ Padrão} - (A) \text{ Branco}} \times 50 (\text{Conc. Padrão}) = \text{mg/dL de ureia na amostra}$$

$$\text{mg/dL Ureia} \times 0,466 = \text{mg/dL de Ureia BUN (Blood Urea Nitrogen)}^6.$$
Factor de conversão: mg/dL x 0,1665 = mmol/L.

CONTROLO DE QUALIDADE

É conveniente analisar juntamente com as amostras, os soros controlo valorizados: SPINTROL H Normal e Patológico (Ref. 1002120 e 1002210).

Se os valores determinados estiverem fora do intervalo de tolerância, verificar o equipamento, os reagentes e o calibrador.

Cada laboratório deve dispor do seu próprio Controlo de Qualidade e estabelecer correções caso os controlos não cumpram com as tolerâncias.

VALORES DE REFERENCIA

Soro: 12,6 - 42,6 mg/dL (2,1 - 7,1 mmol/L)

Urina: 25,8 - 42,6 gr/24 h

Estes valores são orientativos. É recomendável que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores de referência.

CARACTERÍSTICAS DO MÉTODO
1. Veracidade: A veracidade foi avaliada através de uma comparação do método com amostras reais. Os resultados obtidos podem ser consultados na próxima secção intitulada.

2. Precisão: a repetibilidade e a reprodutibilidade foram avaliadas com base no protocolo CLSI EP05-A3:

N	Média (mg/dL)	Repetibilidade	
		SD	CV (%)
80	40,4	0,41	1,0
	113	0,23	0,2

N	Média (mg/dL)	Reprodutibilidade	
		SD	CV (%)
90	43,8	2,64	6,0
	117	5,84	5,0

3. Sensibilidade analítica: a sensibilidade analítica observada foi de 0,00588 Abs/mg/dL a 580 nm.

4. Especificidade analítica: a bilirubina (21,2 mg/dL), os triglicéridos (4097 mg/dL) e a hemoglobina (312 mg/dL) não interferem. Não utilizar sais de amónio como anticoagulante. Uma lista de medicamentos e outras substâncias que interferem com a determinação da ureia foi apresentada por Young et. al^{7,8}.

5. Limite de deteção (LoD): valores inferiores a 0,27 mg/dL dão resultados não reprodutíveis.

6. Gama de medição: do limite de quantificação de 1,50 mg/dL ao limite de linearidade de 250 mg/dL. Se os resultados obtidos forem superiores ao limite de linearidade, diluir a amostra 1/2 com NaCl 9 g/L e voltar a efetuar o teste.

7. Comparação dos métodos: os resultados obtidos com este reagente (y) foram comparados com os obtidos com um reagente comercial (x) de características semelhantes. Foram analisadas 50 amostras de diferentes concentrações de ureia. O coeficiente de correlação (r) e a equação de regressão foram os seguintes: y = 1,081 + 0,973x r = 0,999

As características do método podem variar segundo o analisador utilizado.

NOTAS
1. UREIA CAL: Devido á natureza do produto, é aconselhável manuseá-lo com muito cuidado, já que se pode contaminar com facilidade.

2. O material utilizado bem como a água destilada que se utiliza devem estar livres de amoníaco e/ou seus sais⁶.

3. A calibração com o padrão aquoso pode dar lugar a erros sistemáticos em métodos automáticos. Nestes casos, recomenda-se a utilização de calibradores séricos.

4. Usar pontas de pipeta descartáveis prontas para utilização.

5. SPINREACT dispõe de instruções detalhadas para a aplicação deste reagente em diferentes equipamentos.

BIBLIOGRAFIA

- D. T. Selewski and J. M. Symons, "Acute kidney injury," *Pediatr. Rev.*, vol. 35, no. 1, pp. 30-41, 2014.
- L. Koppe, D. Fouque, and C. O. Soulage, "Metabolic Abnormalities in Diabetes and Kidney Disease: Role of Uremic Toxins," *Curr. Diab. Rep.*, vol. 18, no. 10, 2018.
- K. Nakamura, J. Kido, H. Mitsubuchi, and F. Endo, "Diagnosis and treatment of urea cycle disorder in Japan.," *Pediatr. Int.*, vol. 56, no. 4, pp. 506-509, 2014.
- M. Ostermann, "Diagnosis of acute kidney injury: Kidney Disease Improving Global Outcomes criteria and beyond.," *Curr. Opin. Crit. Care*, vol. 20, no. 6, pp. 581-587, 2014.
- A. H. B. Wu, *Tietz clinical guide to Laboratory tests*, 4th Ed. Saunders Elsevier, 2006.
- Kaplan A. Urea. Kaplan A et al. *Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton* 1984; 1257-1260 and 437 and 418.
- Young DS. *Effects of disease on Clinical Lab. Tests*, 4th ed AACC 2001.
- Young DS. *Effects of drugs on Clinical Lab. Tests*, 4th ed AACC Press, 1995.

APRESENTAÇÃO

 Ref: 1001331 Cont. R1: 2 x 150 mL, R2: 2 x 150 mL, R3: 2 → 150 mL
 CAL: 1 x 5 mL

 Ref: 1001329 R1: 5 x 50 mL, R2: 5 x 50 mL, R3: 5 → 50 mL,
 CAL: 1 x 5 mL