

#### Finalidade

Para a determinação de ureia em soro, plasma ou urina.

#### Significado Clínico

O excesso de proteínas na alimentação, o consumo de proteína alimentar de baixa qualidade ou a deficiência de carboidratos aumenta a concentração plasmática de ureia. Hemorragia gastrointestinal, lambedura obsessiva de uma ferida que sangra ou engolir sangue de epistaxe também causarão esse efeito.

Septicemia grave, animais que estão formando grande quantidade de pus, anormalidades hormonais (especialmente a síndrome de Cushing), tendem a diminuir a concentração de ureia.

A insuficiência renal leva a uma falha na excreção da ureia e consequente elevação da sua concentração plasmática.

A elevação da ureia nas causas pós renais ocorrem nas obstruções das vias urinárias (cálculos, carcinomas ou pólipos.

# Fundamento do método

Baseado no seguinte esquema de reação:

ureia + H<sub>2</sub>O urease ≥ 2 NH<sub>3</sub> + CO<sub>2</sub>

 $NH_3 + NADH + H^+ + 2$ -oxoglutarato  $\longrightarrow$  I-glutamato  $+ NAD^+ + H_2O$ 

#### **Reagentes Fornecidos**

A. Reagente A: solução contendo tampão Good pH 7,6, 2-oxoglutarato, urease e glutamato desidrogenase (GIDH).

B. Reagente B: solução contendo NADH.

S. Padrão: solução de ureia 60 mg/dL (equivalente a 28,04 mg/dL de BUN).

# Concentrações finais

Tampão Good	250 mmol/L
2-Oxoglutarato	
NADH	
Urease (Jack bean)	≥5000 U/L
GIDH (microbiana)	≥ 800 U/L

# Reagentes não fornecidos

- **Laborcal Vet** da Laborlab para a técnica automática. Pode ser empregado também nas calibrações com a técnica manual.

# Instruções de Uso

Padrão: pronto para uso.

Reagentes A e B: prontos para uso. Podem ser utilizados separadamente ou como Reagente único misturando 4 partes de Reagente A + 1 parte de Reagente B (ex. 4 mL Reagente A + 1 mL Reagente B).

# Precauções

Os reagentes são para uso diagnóstico in vitro veterinário.

Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas.

Todos os reagentes e as amostras devem ser descartados conforme a regulação local vigente.

# Estabilidade e instruções de armazenamento

Reagentes fornecidos: são estáveis sob refrigeração (2-8ºC) até a data do vencimento indicada na embalagem. Uma vez abertos não devem permanecer destampados nem fora do refrigerador durante períodos de tempo prolongados. Evitar contaminações.

Reagente único (pré-misturado): estável sob refrigeração (2-8ºC) por 30 dias a contar da data de sua preparação.

# Indícios de instabilidade ou deterioração dos reagentes

A turbidez é indício de deterioração dos Reagentes.

Quando o espectrofotômetro é zerado com água, leituras de Absorbância do Branco inferiores a 1,000 D.O. (a 340 nm) são indícios de deterioração.

# Amostra

Soro, plasma ou urina.

 a) Coleta: obter soro da maneira habitual ou plasma coletado com anticoagulantes comuns. Separar dos eritrócitos em até 24 horas após obtenção da amostra. Se a amostra for urina, utilizar preferencialmente recém coletada.

- Aditivos: caso a amostra a ser utilizada seja plasma, recomenda-se o uso de heparina ou EDTA como anticoagulante para sua obtenção.
   Não utilizar heparinato de amônio.
- c) Estabilidade e instruções de armazenamento: a ureia em soro é estável 7 dias a 20-25ºC ou a 2-8ºC ou 1 ano a -20ºC, sem acréscimo de conservantes. Em urina é estável 2 dias a 20-25ºC, 7 dias a 2-8ºC ou 4 semanas a -20ºC sem acréscimo de conservantes.

#### Interferências

Não são observadas interferências por bilirrubina até 15,0 mg/dL, hemoglobina até 350 mg/dL nem triglicerídeos até 700 mg/dL.

# Material necessário (não fornecido)

- Espectrofotômetro;
- Micropipetas e pipetas capazes de medir os volumes indicados;
- Cubetas espectrofotométricas e,
- Cronômetro.

# Condições da reação

(diminuição de absorbância)

- Comprimento de onda: 340 nm (Hg 334 ou 366)
- Temperatura da reação: 37ºC - Tempo de reação: 2 minutos - Volume de amostra: 10 μL - Volume final da reação: 1,01 mL

Os volumes de Amostra e de Reagente podem variar proporcionalmente a fim de adaptá-los aos requerimentos dos diferentes espectrofotômetros.

# Procedimento

#### I-Técnica com reagentes separados

Zerar o aparelho com água destilada.

Em uma cubeta mantida à temperatura de trabalho, colocar:

Reagente A	1,0 mL
Amostra ou Padrão	10 μL

Misturar sem inversão. Incubar por aproximadamente 1 minuto a 37ºC. Após acrescentar:

Reagente B	250 uL

Misturar imediatamente (sem inversão) e disparar simultaneamente o cronômetro. Ler a absorbância após 60 segundos ( $D_1$  ou  $P_1$ ) e continuar a incubação. Medir novamente a absorbância ( $D_2$  ou  $P_2$ ) aos 120 segundos (60 segundos depois da  $1^a$  leitura).

# II- Técnica com reagente único

Zerar o aparelho com água destilada.

Em uma cubeta mantida à temperatura de trabalho colocar:

Reagente único	1,0 mL
Amostra ou Padrão	10 ul

Misturar imediatamente (sem inversão) e disparar simultaneamente o cronômetro. Ler a absorbância após 60 segundos ( $D_1$  ou  $P_1$ ) e continuar a incubação. Medir novamente a absorbância ( $D_2$  ou  $P_2$ ) aos 120 segundos (60 segundos depois da  $1^a$  leitura).

# III- Técnica em urina

Utilizar a mesma técnica (I ou II) diluindo a urina convenientemente com água ou solução fisiológica. Para o cálculo dos resultados, multiplicar pelo fator de diluição utilizado.

# Cálculo dos resultados

Ureia (mg/dl) = f x (D<sub>1</sub>-D<sub>2</sub>) 
$$f = \frac{60 \text{ mg/dl}}{P_1-P_2}$$

Exemplo:

(Os dados apresentados a seguir são ilustrativos)

Amostra

D<sub>1</sub>: 1,350 D<sub>2</sub>: 1,295

Absorbância da amostra: 1,350 – 1,295 = 0,055

**Padrão** S<sub>1</sub>: 1,250



S<sub>2</sub>: 1,168

Absorbância do Padrão: 1,250 - 1,168 = 0,082

fator =  $\frac{60 \text{ mg/dl}}{0.082}$  = 732

Ureia (mg/dL) =  $0.055 \times 732 = 40 \text{ mg/dL}$ 

# Método de Controle de Qualidade

Processar 2 níveis de um material de controle de qualidade (Laborcontrol *Vet* 1 e 2) com atividades conhecidas de ureia, com cada determinação.

#### Conversão de unidades ao sistema SI

Ureia (g/L) x 46,7 = BUN (mg/dL) Ureia (mg/dL) x 0,1665 = Ureia (mmol/L) Ureia (mg/dL) x 0,467 = BUN (mg/dL) BUN (mg/dL) x 2,14 = Ureia (mg/dL)

Ureia (g/24 hs) x 0,0167 = Ureia (mol/24 hs)

Para converter valores de ureia (em mg/dL) a valores de BUN (em mg/dL), deve-se utilizar o seguinte fator de conversão:

fator = 
$$\frac{1}{2,14}$$
 = 0,467

onde:

1/2,14 = fator de conversão entre a ureia e o nitrogênio ureico no sangue (BUN)

Exemplo:

50 mg/dL de ureia x 0,467 = 23,4 mg/dL de BUN

### Valores de Referência Espécie (mg/dL)

Canina	21 – 59,9
Felina	42,8 – 64,2
Bovina	23 – 58
Eguina	21 – 51

Os valores de referência devem ser usados apenas como orientação. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça, na população de animais atendida, seus próprios valores de referência. Se a amostra for urina, utilizar um controle baseado em urina.

# Limitações do procedimento

Vide "Interferências".

Para preservar a integridade dos regentes deve ser utilizado material volumétrico perfeitamente limpo e seco.

# Desempenho

a) **Reprodutibilidade:** processando 20 determinações simultaneamente de uma amostra canina e outra equina com valores dentro do intervalo de referência, obteve-se o seguinte:

Amostra Canina:		
Nível	D.P.	C.V.
152 mg/dl	3,35	2,20
21.6 mg/dl	U 93	4.30

# Amostra Equina:

Nível	D.P.	C.V.
39,1	1,08	2,76
118,2	1,81	1,53

- b) Sensibilidade: a sensibilidade analítica da Ureia UV VET é de 7,1 mg/dL (0,071 g/L) de ureia ou 3,32 mg/dL de BUN e o limite de detecção é 3,83 mg/dL (0,0383 g/L) de ureia ou 1,79 mg/dL de BUN.
- c) Linearidade: a reação é linear até 300 mg/dL (3 g/L) de ureia e até 140 mg/dL como BUN. Para valores superiores, diluir a amostra original 1:2 com água destilada e repetir a determinação. Corrigir os cálculos multiplicando o resultado pelo fator de diluição empregado.

# Parâmetros para analisadores automáticos

Para a programação consultar o manual de uso do analisador a ser utilizado.

Para a calibração do aparelho deve ser utilizado o **Laborcal** *Vet* da Laborlab.

# Apresentação

2 x 80 mL Reagente A 2 x 20 ml Reagente B 1 x 4,0 mL Padrão (Cód. 1774304)

#### Referências

- Talke, H.; Schubert, G.E. Klin Wochschr 43:174, 1965..
- Tiffany, T.O.; Jansen, J.M.; Burtis, C.A.; Overton, J.B.; Scott, C.D. Clin. Chem. 18:829, 1972...
- Young, D.S. "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.
- Tietz Fundamentals of clinical chemistry Burtis, C., Ashwood, E. (50 Edition) WB Saunders, 2001.
- González, F. H. D.; SILVA, S. C. Introdução a bioquímica clínica veterinária. Porto Alegre: UFRGS, 2003.
- Kerr, Morag G. Exames Laboratoriais em Medicina Veterinária 2ª ed., Roca: São Paulo, 2003.

#### Termo de garantia

Este Kit como um todo tem garantia de troca, desde que esteja dentro do prazo de validade e seja comprovado pelo Departamento Técnico da Laborlab Produtos para Laboratórios Ltda. que não houve falhas técnicas na execução e manuseio deste kit, assim como em sua conservação.

# **SÍMBOLOS**

 $\epsilon$ 

Este produto preenche os requisitos da Diretiva Européia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"

EC REP

Representante autorizado na Comunidade Européia

IVD

Uso médico-diagnóstico "in vitro"

Conteúdo suficiente para <n> testes

Σ

Data de validade

1

Limite de temperatura (conservar a)

\*

Não congelar

€

Risco biológico

\_

Volume após da reconstituição

Cont.

Conteúdo

LOT

Número de lote

\_

Elaborado por:

Xn

×

Nocivo

5

Corrosivo / Caústico

X

Irritante

ĭ

Consultar as instruções de uso

Calibr.

Calibrador

CONTROL +

Controle

CONTROL +

Controle Positivo

CONTROL -

Controle Negativo

REF

Número de catálogo

Laborlab Produtos para Laboratórios Ltda.
Estrada do Capão Bonito, 489
Guarulhos/SP – Brasil – CEP: 07263-010
CNPJ: 72.807.043/0001-94
Atendimento ao cliente:
+55(11) 2480-0529/+55(11) 2499-1277