

ÁCIDO ÚRICO (Líquido)

Uso:

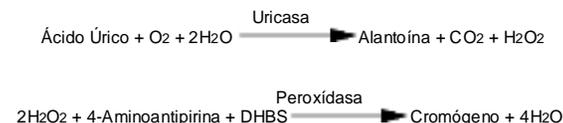
Para la determinación cuantitativa in vitro de ácido úrico en suero.

Introducción El ácido úrico es el producto final del metabolismo de las purinas. Casi la mitad del ácido úrico total se elimina y se sustituye cada día por medio de la excreción urinaria y a través de la degradación microbiana en el tracto intestinal. El aumento de los niveles de ácido úrico es comúnmente asociados con la retención de nitrógeno y urea, creatina, y otros componentes no proteicos. La cuantificación de ácido úrico es una ayuda en el diagnóstico de la gota, la disminución de la función renal, trastornos mieloproliferativos, y otras condiciones en las que la causa de la hiper-uricemia no es bien conocida.1

El ácido úrico se determina más comúnmente por un método fosfotungstato2 y un método de reducción de hierro.3 Debido a las interferencias de suero, la enzima uricasa ha sido ampliamente utilizada en su lugar. Uricasa es más específica para el ácido úrico ya que uricasa actúa sólo sobre ácido úrico.4, 5

Principio:

La secuencia de reacción enzimática empleada en las pruebas de ácido úrico es la siguiente:



El ácido úrico es convertido por uricasa en alantoína y peróxido de hidrógeno. El peróxido de hidrógeno inicia el acoplamiento de 4-aminoantipirina a 3,5-dicloro-2- hidroxibenceno ácido sulfónico (DHBS) para formar el cromógeno que se mide a 520 nm y que es proporcional a la cantidad de peróxido de hidrógeno generado a partir de ácido úrico.

Composición del Reactivo:

Reactivo de Ácido úrico: 4-Aminoantipirina 4 mM, 3,5 dicloro-2-hidroxibenceno sulfonato 2 mM, estabilizador y agente tensioactivo, Buffer pH 7.5.

Advertencias y Precauciones:

1. Para el uso de diagnóstico in vitro.

PRECAUCIÓN: El reactivo puede ser peligroso. Manipular según las buenas prácticas de laboratorio, que dictan evitar la ingestión y contacto con los ojos o la piel.

2. Las muestras de suero se deben considerar infecciosas y manejadas adecuadamente.

Almacenamiento y Estabilidad:

El reactivo se almacena refrigerado (2-8°C). **NO CONGELAR.** Llevar el reactivo a temperatura ambiente antes de su uso.

Deterioro del reactivo:

El reactivo debe desecharse si:

1. Se ha producido turbidez; turbidez puede ser una señal de contaminación.

2. Hay evidencia de decoloración. Un ligero color rosado es normal.

Recolección de la Muestra:

1. La muestra de la prueba debe ser suero y libre de hemólisis.

2. La contaminación bacteriana se debe evitar para preservar la pérdida de ácido úrico.

3. El ácido úrico es estable en el suero durante tres (3) días a 2-8°C y un máximo de seis (6) meses congelado.6

Sustancias que Interfieren:

1. La bilirrubina y el ácido ascórbico pueden resultar en niveles de ácido úrico falsamente deprimidos.

2. Las muestras lipémicas pueden causar niveles elevados falsos de ácido úrico.

3. Tubos de colección que contienen formaldehído como conservante deben ser evitados.

4. Para una mejor comprensión de las interferencias de medicamentos consulte Young et al.7

Materiales Necesarios Pero No Suministrados:

1. Dispositivos de pipeteo.

2. Tubos de ensayo/estante.

3. Cronómetro.

4. Bloque de calentamiento (37 °C).

5. Espectrofotómetro capaz de leer a 520 nm.

Instrucciones Generales:

El reactivo para el ácido úrico es para uso ya sea como un procedimiento automatizado en instrumentos de química o como un procedimiento manual en un espectrofotómetro adecuado.

Procedimiento Automatizado:

Consulte el manual del instrumento para la aplicación apropiada.

Procedimiento Manual:

1. Identifique los tubos, "Blanco de reactivo", "estándar", "control", "desconocido", etc.

2. Pipetear 1.0 mL de reactivo de trabajo en todos los tubos.

3. Pre-caliente todos los tubos a 37°C durante tres (3) minutos.

4. Añadir 0.025 mL (25 µL) de muestra a los tubos respectivos y mezclar.

5. Incubar los tubos a 37°C durante diez (10) minutos.

6. Después de la incubación, cero el espectrofotómetro con el blanco de reactivo a 520 nm y leer/registrar la absorbancia de todos los tubos. (Rango de longitud de onda 500-550 nm)

7. Repita el procedimiento para cada muestra.

*UN CALIBRADOR MULTIUSO SE PUEDE UTILIZAR PARA REEMPLAZAR EL ESTÁNDAR.

Volúmenes Alternos:

Si el espectrofotómetro utilizado requiere un volumen final mayor de 1.0 mL para hacer una lectura correcta, utilice 0.05 mL (50 µL) de muestra a 3.0 mL de reactivo. Lleve a cabo la prueba como fue descrita anteriormente.

Limitaciones de Procedimiento:

El reactivo es lineal hasta 25 mg/dL de ácido úrico. Las muestras con valores superiores a 25 mg/dL deben ser diluidas 1:1 con solución salina, y volverse a analizar los resultados se multiplican por dos (2). Las muestras lipémicas darán resultados falsamente elevados y un blanco de suero se debe procesar.

Blanco de suero: Añadir 0.025 mL (25 µL) de la muestra a 1.0 mL de agua. Poner a cero el espectrofotómetro con agua. Lea y registre la absorbancia y restar la lectura de absorbancia de prueba.

Cálculos:

A = Absorbancia

$A_{\text{desconocido}} \times \text{concentración Estándar} = \text{valor desconocido (mg/dL)}$

$A_{\text{estándar}}$

Ejemplo: Si $A_{\text{desconocido}} = 0.170$, $A_{\text{estándar}} = 0.180$ y concentración del estándar = 5 mg/dL, entonces:

$$\frac{0.170}{0.180} \times 5 = 4.7 \text{ mg/dL}$$

Unidades SI (mmol/L): Multiplicar el resultado (mg/dl) por 10 para convertir dl a litros y dividir por 168 (peso molecular de ácido úrico).

$$\text{mg/dL} \times \frac{10}{168} = \text{mmol/L} \quad \text{mg/dL} \times 0.0595 = \text{mmol/L}$$

Control de Calidad:

Se recomienda que los controles se incluyan en cada serie de pruebas. Material de control comercialmente disponible con los valores establecidos de ácido úrico se puede utilizar para el control de calidad. El valor asignado del material de control debe ser confirmado por la aplicación elegida. Si no se obtiene el rango apropiado de valores en el ensayo del material de control puede indicar deterioro del reactivo, el mal funcionamiento de instrumentos, o errores de procedimiento.

Valores Esperados:

1.5 – 7.0 mg/dl8

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango normal.

Características de Rendimiento:

1. Linealidad: 25.0 mg/dL.

2. Sensibilidad: Basado en un instrumento de resolución de 0.001 de absorbancia, el presente procedimiento tiene una sensibilidad de 0.03 mg/dL.

3. Comparación: Una comparación con otro procedimiento de ácido úrico enzimático produjo un coeficiente de correlación de 1.00 con una ecuación de regresión de $y = 1.02x - 0.22$.

4. Estudios de Precisión:

Entre Corridas:

Promedio (mg/dL)	S. D.	C. V.
3.9	0.06	2.0%
7.9	0.04	1.0%

Corrida a Corrida:

Promedio (mg/dL)	S. D.	C. V.
3.9	0.08	2%
8.4	0.50	6%

Referencias:

1. Davidson, L., and Henry, J.B.: Todd-Sanford Clinical Diagnosis by Laboratory Method, 15th ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia, PA (1974).

2. Caraway, W.T., Clin. Chem. 4:239 (1963).

3. Morin, L.G., Clin. Chem. 20:51 (1974).

4. Fossati, P., and Bertia, A., Clin. Chem. 26:227 (1980).

5. Duncan, P. et al., Clin. Chem. 28:291 (1982).

6. Henry, R.J., Clinical Chemistry: Principles and Techniques NY, Harper and Row, Second Edition (1974).

7. Young, D.S., et al., Clin. Chem. 21:10-4320 (1975).

8. Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, Philadelphia, W.B. Saunders 729 (1976).

