

Indicación de uso.

Para la determinación cuantitativa de Ácido Úrico en suero. Para uso diagnóstico in vitro solamente.

Importancia Clínica

La determinación de ácido úrico en suero se realiza con mayor frecuencia para el diagnóstico de gota. El aumento de los niveles de ácido úrico también se encuentra en la leucemia, policitemia, hiperuricemia idiopática familiar, y condiciones asociadas con la disminución de la función renal.

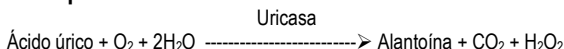
Resumen de la prueba

El ácido úrico se ha determinado por métodos fosfotungstato,¹ una variación del método fosfotungstato² y los métodos de reducción de hierro.^{3,4} Las metodologías anteriores están influenciadas por muchas sustancias en sus procedimientos, así como muchas sustancias en sus procedimientos también como muchas sustancias contaminantes en el material de vidrio, etc.⁵

La enzima uricasa ha sido ampliamente utilizada para la determinación de ácido úrico debido a su mayor especificidad.^{6,7} Recientemente, el peróxido de hidrógeno, un subproducto de la reacción del ácido úrico-uricasa, se ha unido a otras reacciones enzimáticas para producir un producto final colorimétrico.

El presente procedimiento se utiliza el acoplamiento de la 4-aminoantipirina (4-AAP), 2-Hydroxy-3,5-Dicloro-benzensulfonato (HDCBS), y peróxido de hidrógeno en presencia de peroxidasa para producir un cromógeno medido a 520nm.

Principio



El ácido úrico es oxidado por la uricasa a alantoína y peróxido de hidrógeno. HDCBS + peróxido de hidrógeno, en presencia de peroxidasa, produce un cromógeno rojo que se mide a 520nm. La absorbancia a 520nm es proporcional a la concentración de ácido úrico en la muestra.

Composición del Reactivo

Reactivo de ácido úrico: 4-AAP 0,2mM, HDCBS 2mM, Uricasa (microbiana) 150 U/L, Peroxidasa (rábano picante) 2500 U/L, Buffer, pH 7.5 ± 0.1, Estabilizador no reactivo, azida de Sodio 0.02%.

Preparación de Reactivos

El reactivo está listo para usar.

Almacenamiento de reactivos y estabilidad.

El juego de reactivos se almacena a 2-8°C. Bajo el adecuado almacenamiento de los reactivos, son estables hasta la fecha de caducidad indicada.

Precauciones

- Este juego de reactivos es para uso diagnóstico in vitro solamente.
- Este reactivo contiene azida de sodio al 0.02%. Esto puede reaccionar con el cobre o el plomo para formar azidas metálicas explosivos. Después de usar, enjuagar con grandes cantidades de agua para prevenir la acumulación de azidas.
- El reactivo no debe usarse si: El reactivo es turbio o contiene el crecimiento microbiano obvio. El blanco del reactivo tiene una absorbancia de 0.500 o mayor a 520nm. El color rosa es normal para este reactivo.
- Todas las muestras y controles deberán tratarse como potencialmente infecciosos, utilizando procedimientos de seguridad de laboratorios. (NCCLS M29-T2)⁸

Inten

Recolección de muestras y almacenaje

- Se recomienda suero no hemolizado.
- El ácido úrico en el suero es estable por tres días a 2-8°C y máximo de seis meses cuando se congela.⁹
- Recolectar las muestras por NCCLS documento H4-A3.¹⁰

Interferencias

- Niveles elevados de ácido ascórbico pueden resultar en valores falsamente reducidos de ácido úrico.
- Las muestras lipémicas pueden causar niveles falsos elevados de ácido úrico.
- Hemoglobina hasta 100 mg/dl han demostrado que tienen un efecto insignificante (<5%) en los valores de ácido úrico. Hemoglobina superior a 100 mg/dl puede causar valores falsamente elevados de ácido úrico.
- Bilirrubina de 30 mg/dl ha demostrado que tiene un efecto insignificante (<5%) en los resultados de ácido úrico usando este método.
- Ver Young, et al¹¹ para otras sustancias de interferencia.

Materiales suministrados

Reactivo de ácido úrico.

Materiales requeridos pero no suministrados

- Dispositivos de pipetas precisas.
- Temporizador.
- Tubos de ensayo / soporte
- Espectrofotómetro con capacidad para leer a 520 nm.
- Bloque de calentamiento
- Estándar de ácido úrico traceable NIST o calibrador
- Controles de suero con valores de ácido úrico normales y anormales.

Procedimiento (Automatizado General)

Longitud de onda:	520nm
Tipo de ensayo:	Punto final
Muestra/Proporción Reactivo:	1:41
Dirección de Reacción:	En aumento
Temperatura:	37°C
Tiempo de incubación:	600 segundos
Bajo Normal:	2.5 mg/dl
Alto Normal:	7.7 mg/dl

Procedimiento (Manual)

- Etiqueta los tubos "Blanco", "Estándar", "Control", "Muestra", etc.
- Pipetear 1.0 ml de reactivo de trabajo en cada tubo.
- Pre-calentar a 37°C durante al menos cinco minutos.
- Añadir 0.025 ml (25ul) de muestra a los tubos respectivos y mezcle.
- Incubar todos los tubos a 37°C por 10 minutos.
- Cero en el espectrofotómetro con el blanco de reactivo a 520nm. Leer y registrar las absorbancias de todos los tubos del ensayo.
- Para determinar los resultados vea "Cálculos".

Limitaciones

- Si el espectrofotómetro requiere un volumen final mayor de 1.0ml para una lectura precisa, use 0.075ml (75ul) de muestra en 3.0ml de reactivo. Realizar la prueba como se describió anteriormente.
- El procedimiento descrito es lineal hasta 20 mg/dl. Muestras con valores superiores a 20 mg/dl se deben diluir 1:1 con solución salina, re-analizada, y los resultados se multiplican por dos.
- Las muestras Lipémicas darán resultados falsamente elevados y el blanco de suero se debe ejecutar. Blanco de Suero: Añadir 0.025ml (25ul) de muestra a 1.0ml de agua. Cero el espectrofotómetro con agua. Leer y registrar la absorbancia y restar la lectura de la absorbancia de prueba. Calcular como de costumbre.

Calibr

reacción en una muestra cero. Por otra parte, que un cambio de absorbancia de 0.015 fue aproximadamente equivalente a 1 mg/dl de Ácido Úrico.

acción

Utilizar un estándar NIST de Ácido Úrico (5.0 mg/dl) o calibrador de suero. El procedimiento deberá ser calibrado de acuerdo a las instrucciones del instrumento calibrador del fabricante. Si los resultados del control están fuera de rango, el procedimiento deberá ser re-calibrado.

Cálculos

A = Absorbancia

$$\frac{A(\text{Desc})}{A(\text{Est})} \times \text{Conc. de Estándar (mg/dl)} = \text{Ácido Úrico (mg/dl)}$$

Ejemplo: A (Desc) = 0.126, A (Est) = 0.100, Conc. de Est = 5 mg/dl.

$$\text{Entonces: } \frac{0.126}{0.100} \times 5 = 6.3 \text{ mg/dl}$$

Unidades SI (mM/L)

Para convertir a mM/L, multiplicar el resultado (mg/dl) por 10 para convertir dl a L y dividir por 168 (el peso molecular del Ácido Úrico).

$$\text{Mg/dl} \times \frac{10}{168} = \text{mM/L} \qquad \text{mg/dl} \times .0595 = \text{mM/L}$$

Ejemplo: 6.3mg/dl x .0595 = 0.374mM/L

Control de Calidad

Controles de Suero con valores de ácido úrico normales y anormales deben ser ejecutados rutinariamente para monitorear la validación de la reacción. Estos controles deberán ser ejecutados al menos en cada turno de trabajo en el que las determinaciones de ácido úrico se llevan a cabo. Es muy recomendable que cada laboratorio establezca su propia frecuencia de la determinación de control.

Valores Esperados

2.5 - 7.7mg/dl⁹

Es muy recomendable que cada laboratorio establezca su propio rango normal.

Rendimiento

- Rango de Ensayo: 0 - 20 mg/dl
- Comparación: Los resultados obtenidos con este método (y), en 132 muestras que van en ácido úrico de 1.9-10.5 mg/dl, se compararon con aquellos obtenidos en las mismas muestras usando un reactivo de polvo seco (x) sobre la base de la misma metodología. El coeficiente de correlación fue de 0.999 y la ecuación de regresión fue $y=1.00x-0.02$. ($Sy,x=19.66$).
- Precisión: Los estudios de precisión se realizaron siguiendo las directrices contenidas en el NCCLS del documento EP5-T2.¹²

En un Día (n=20)			Día a Día (n=20)		
Media	S.D.	C.V.%	Mean	S.D.	C.V.%
6.0	0.06	1.0	6.1	0.16	2.63
6.9	0.04	0.58	7.2	0.16	2.24
9.9	0.06	0.60	10.2	0.31	3.05

- Sensibilidad: La sensibilidad de este reactivo fue investigado para el cambio de la lectura en la absorbancia a 520nm para una muestra de solución salina y dos muestras de suero con concentraciones conocidas. Diez repeticiones de cada muestra se realizaron. Los resultados de esta investigación indicaron que, en el analizador usado, el ácido úrico (Líquido) mostro pequeña reacción o sin

Referencias

- Folin, D., Dennis, W., J. Biol. Chem. 13:469 (1913).
- Caraway, W.T., Clin. Chem. 4:239 (1963).
- Morin, L.G., J. Clin. Path. 60:691 (1973).
- Morin, L.G., Clin. Chem. 20:51 (1974).
- Brochner-Mortenson, K., Medicine 19:161 (1940).
- Klackar, H.M., J. Biol. Chem. 167:429 (1947).
- Praetorius, E., Poulson, H., Scand. J. Clin. Invest 5:273 (1953).
- NCCLS document "Protection of Laboratory Workers form Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue", 2nd Ed. (1991).
- Henry, R.J., Clinical Chemistry: Principles and Technics, 2nd Ed., Hagerstown (MD), Harper & Row, pp. 531 & 541 (1974).
- NCCLS document "Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Skin Puncture", 3rd Ed. (1991).
- Young, D.S., et al. Clin. Chem. 21:1D (1975).
- NCCLS document "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2nd Ed. (1992).

DISTRIBUIDO POR:



MANZANILLO No. 89 DESP. 110
COL. ROMA SUR C.P.06760 MEXICO, CDMX.
TEL. 5264-4553 FAX: 5264- 4459
WWW.GRUPOMOSCARO.COM