



## ACIDO URICO

<b>Números de catálogo:</b> 220-93	<b>Presentación:</b> 20 x 20 mL
220-94	12 x 50 mL
220-97	1 x 1000 mL
220-15	10 x 15 mL
220-S4	10 x 20 mL

### USO

Equipo diagnóstico para la determinación cuantitativa *in vitro* de ácido úrico en suero.

### PRECAUCION

Evitar la ingestión y el contacto con la piel y los ojos. Almacenar a 2-8°C.

### REACTIVOS

**Reactivo de Ácido úrico:** solución que (después de reconstituida) contiene 0.25 mmol/L de 4-aminoantipirine, 6.0 mmol/L de sulfonato de 3,5-dicloro-2-hidroxibenceno, > 500 U/L peroxidasa (derábano), > 200 U/L de uricasa (*Candida utilis*), amortiguador (pH 7.4 a 25°C), un estabilizados y un conservador.

**Estándar de Ácido Úrico:** solución que contiene 500 µmol/L (8.4 mg/dL) de ácido úrico y un conservador.

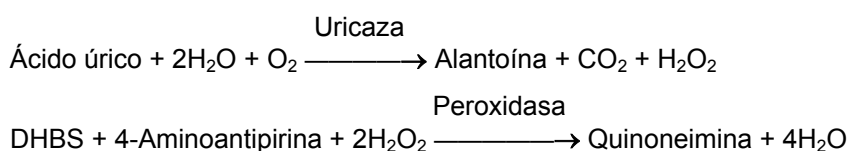
### ANTECEDENTES

La determinación del ácido úrico en suero es muy útil en el diagnóstico de gota donde las concentraciones a menudo son elevadas. La hiperuricemia también se relaciona con trastornos linfo-proliferativos, anemias hemolíticas crónicas y un metabolismo incrementado de nucleoproteínas. Una función renal alterada también produce un aumento en las concentraciones de ácido úrico (1),

El ácido úrico se produce por la acción de la xantina oxidasa en xantina e hipoxantina, los cuales son productos de la degradación de los ácidos nucleicos.

El método químico clásico para la determinación de ácido úrico se basa en la reducción del ácido fosfotungstico por el ácido úrico para formar un complejo de fosfotungstato azul (2). El método no es específico para ácido úrico debido a que otros agentes reductores presentes en el suero o plasma también producen un complejo de fosfotungstato azul. En 1980, Fossati y col. (3) describieron un procedimiento para el análisis de ácido úrico utilizando uricasa, la cual produce peróxido de hidrógeno a partir de ácido úrico. El peróxido de hidrógeno reacciona entonces con un compuesto fenólico para producir un colorante rojo que puede medirse espectrofotométricamente en el rango visible. El procedimiento es más específico y el compuesto fenólico sulfonato de 3,5-dicloro-2-hidroxibenceno (DHBS) aumenta la sensibilidad debido al alto coeficiente de absorbancia del colorante quinoneimina producido. Este procedimiento de ácido úrico es una modificación del de Fossati (3).

### PRINCIPIO



El peróxido de hidrógeno formado por la acción de la uricasa sobre el ácido úrico reacciona con el DHBS y la 4-aminoantipirina en presencia de peroxidasa, para formar el color rojo de la quinoneimina. La intensidad del color producido es directamente proporcional a la concentración de ácido úrico en la muestra.

### **PREPARACION DEL REACTIVO**

Agregue agua desionizada de acuerdo al volumen señalado en la etiqueta del vial. Mezcle suavemente, deje reposar por 5 minutos para su reconstitución, y vuelva a mezclar suavemente.

### **ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO DEL REACTIVO**

El reactivo incluido es estable a 2-8°C hasta la fecha de caducidad indicada en las etiquetas.

El reactivo reconstituido es estable por 30 días a 2-8°C ó por 48 horas a 18-26°C estando protegido de la luz.

### **DETERIORO DEL REACTIVO**

La solución del reactivo debe ser clara. La turbidez indica deterioro.

### **INSTRUMENTOS**

Puede usarse cualquier analizador con control de temperatura de  $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$  que sea capaz de leer la absorbancia con exactitud, a una sensibilidad de 0.001 a 520 nm. El ancho de banda debe ser de 10 nm ó menos, la desviación de la luz de 0.5% ó menos y la exactitud de longitud de onda dentro de 2 nm.

### **RECOLECCION Y PREPARACION DE LA MUESTRA**

La muestra de elección es suero fresco, claro y no hemolizado.

El ácido úrico en suero se mantiene estable por tres días a 18-26°C, por dos semanas a 2-8°C, y por seis meses a una temperatura de -20°C a 0°C.

### **INTERFERENCIAS**

Este procedimiento es específico para ácido úrico, pero agentes reductores como el ácido ascórbico pueden causar interferencia.

Al usar este sistema, no se experimentó interferencia alguna de niveles de bilirrubina de hasta 169  $\mu\text{mol/L}$  (9.9 mg/dL).

El formaldehído inhibe la acción de la uricasa, por lo que deben evitarse los estándares de ácido úrico que contengan formaldehído como conservador.

Puede encontrar un resumen de la influencia de drogas en las pruebas de laboratorio clínico consultando a Young, D.S. (4).

### **PROCEDIMIENTO**

#### **Materiales Proporcionados**

Se proporciona el reactivo necesario para la determinación de ácido úrico. En los equipos con catálogos No. 220-93, 220-94, 220-15, y 220-S4 se incluye un estándar para ácido úrico.

#### **Materiales Requeridos**

1. Un analizador que reúna los requisitos mencionados en la sección de instrumentos.
2. Cubetas de 1 cm o una celda de flujo que transmita luz a 520 nm.
3. Tubos de ensayo de 3 mL.
4. Pipetas capaces de DISPENSAR 3.0 mL y 75  $\mu\text{L}$ .
5. Aqua desionizada para reconstituir al reactivo y para preparar el blanco de reactivo.
6. Un cronómetro para medir el tiempo de incubación por 5 minutos.

## Condiciones

	Genéricas	Analizador Automatizado
Longitud de onda .....	520 nm	505/600 nm
Temperatura .....	18-26°C	37°C
Paso de luz .....	1 cm	
Tipo de reacción .....	Punto final	Punto final
Tiempo de reacción .....	5 minutos	5 minutos
Volumen de la muestra .....	75 µL	10 µL
Volumen de reactivo .....	3.0 mL	400 µL
Volumen total .....	3.075 mL	410 µL
Relación muestra/reactivo .....	1/40	1/40

## Procedimiento

1. Prepare el volumen requerido de reactivo de ácido úrico.
2. En tubos de ensayo por separado, pipetee 75 µL de agua desionizada, del estándar de ácido úrico ó del suero que será analizado.
3. Agregue 3.0 mL del reactivo y mezcle.
4. Incube la mezcla por 5 minutos a 18-26°C y determine la absorbancia del estándar (As) y de cada suero (A) a 520 nm utilizando la muestra de agua desionizada como blanco de reactivo.

## ESTABILIDAD DE LA MEZCLA DE REACCION FINAL

El color de la mezcla de reacción final es estable por 30 minutos.

## CALIBRACION

Se proporciona un estándar de ácido úrico con los equipos con catálogos No. 220-93, 220-94, 220-15, y 220-S4 para calibrar este procedimiento.

## CONTROL DE CALIDAD

Se debe analizar un suero control de nivel normal y otro de nivel anormal con cada serie de muestras y los resultados deberán caer dentro de  $\pm 2$  desviaciones estándar del valor establecido.

## CALCULO Y RESULTADOS

### Resultados

La concentración de ácido úrico está expresada en mmol/L (mg/dL).

### Cálculo

$$\text{Ácido úrico } \mu\text{mol/L (mg/dL)} = \frac{A}{A_s} \times \text{concentración del estándar}$$

A = absorbancia de la muestra desconocida

As = absorbancia del estándar

Ejemplo

$$\begin{aligned} \text{Ácido úrico } \mu\text{mol/L (mg/dL)} &= \frac{0.190}{0.300} \times 500 \\ &= 317 \mu\text{mol/L} \end{aligned}$$

0.190 = absorbancia de la muestra desconocida

0.300 = absorbancia del estándar

500 µmol/L = concentración del estándar

## Limitaciones

Una muestra con una concentración de ácido úrico que exceda el límite de linealidad deberá diluirse con solución salina a 0.9% y deberá reensayarse incorporando el factor de dilución en el cálculo del resultado.

Muestras muy ictericas, hemolíticas o lipémicas requieren el uso de un blanco de muestra que puede prepararse usando 75 µL de muestra y 3.0 mL de agua desionizada.

## VALORES ESPERADOS (1)

Hombres: 208-428 µmol/L (3.5-7.2 mg/dL)

Mujeres: 155-357 µmol/L (2.6-6.0 mg/dL)

Se sugieren estos valores como referencia. Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios rangos normales para el área donde está localizado.

## CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Estas características de rendimiento se obtuvieron en los laboratorios de DCL usando procedimientos automatizados a menos que se indique lo contrario.

### Estudio de Recuperación

Se añadió ácido úrico a dos grupos de suero humano para incrementar la concentración de ácido úrico en 100 µmol/L (1.7 mg/dL). La recuperación del ácido úrico añadido promedió 97%.

### Rango Lineal

El procedimiento manual es lineal hasta 1784 µmol/L (30 mg/dL). La linealidad usando procedimientos automatizados dependerá de la relación muestra/reactivo utilizada.

### Estudios de Precisión

La precisión de un día a otro se estableció analizando 2 sueros control, 2 veces al día durante 10 días.

Ácido úrico	Media µmol/L	Desviación estándar µmol/L	Coefficiente de variación %
Suero 1	243	11.3	4.7
Suero 2	479	19.0	4.0

La precisión diaria se estableció ensayando dos sueros control, 20 veces cada uno.

Ácido úrico	Media µmol/L	Desviación estándar µmol/L	Coefficiente de variación %
Suero 1	244	7.1	2.9
Suero 2	494	8.3	1.7

### Exactitud

Se hizo una comparación entre este método y un método enzimático similar usando 50 muestras que oscilaron entre 190 µmol/L y 1487 µmol/L. El coeficiente de correlación fue de 0.9983. El análisis de regresión lineal dio la siguiente ecuación:

$$\text{Este método} = 1.03 (\text{método de referencia}) - 18.4 \mu\text{mol/L.}$$

## REFERENCIAS

1. Tietz, N.W. (Ed.), Fundamentals of Clinical Chemistry, Second Edition, (1982) W.B. Saunders Co., Toronto.
2. Jung, D. H., and Parekh, A.C., An Improved Reagent System for the Measurement of Serum Uric Acid, Clin. Chem. 16, 247 (1970).
3. Fossati, P., Prencipe, L., Berti, G., Use of 3,5-Dichloro-2-hydroxybenzenesulfonic Acid/4-Aminophenazone Chromogenic system in Direct Enzymic Assay of Uric Acid in Serum and Urine, Clin. Chem. 26, 227-231 (1980).
4. Young, D.S., Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, AACC Press, Washington, Third Edition, 1990.