



ACIDO URICO-SL

Números de catálogo: 237-60

Presentación: 2 x 100 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. Vea la Hoja de Seguridad del Material.

REACTIVOS

Reactivo de Ácido Úrico: solución amortiguada que contiene 1.8 mmol/L de DHBS, 0.5 mmol/L de 4-aminoantipirine, > 3500 U/L de peroxidasa (de rábano), > 200 U/L de uricasa (*Candida utilis*), estabilizadores y conservadores.

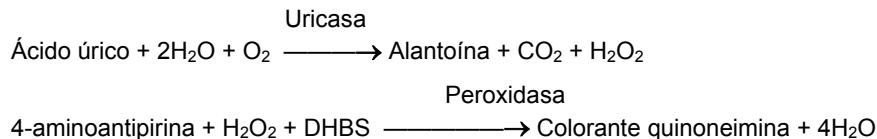
ANTECEDENTES

La determinación del ácido úrico en suero es muy útil en el diagnóstico de gota donde las concentraciones son crónicamente elevadas. La hiperuricemia también se relaciona con trastornos linfo-proliferativos, anemias hemolíticas crónicas y un metabolismo incrementado de las 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 absorbanza del colorante quinoneimina producido. Este procedimiento de ácido úrico es una modificación del de Fossati (3).

PRINCIPIOS



El peróxido de hidrógeno formado por la acción de la uricasa sobre el ácido úrico ocasiona un acoplamiento oxidativo de DHBS y 4-aminoantipirina, en presencia de peroxidasa, formando el complejo colorido rojo quinoneimina. La intensidad del color producido es directamente proporcional a la concentración de ácido úrico en la muestra, con una absorbancia máxima a 520 nm.

PREPARACION DEL REACTIVO

El reactivo es suministrado listo para su uso.

ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO DEL REACTIVO

El reactivo es estable hasta la fecha de caducidad especificada en la etiqueta a 2-8°C.

DETERIORO DEL REACTIVO

La solución del reactivo debe ser clara. Una turbidez indicaría 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, con una sensibilidad de 0.001 de absorbancia a 520 nm. El ancho de banda deberá ser de 10 nm o menos, la desviación de la luz de 0.5% o 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 sérico es estable por 3-5 días a $2-8^{\circ}\text{C}$ o por 6 meses a $-20 - 0^{\circ}\text{C}$ (4).

PREPARACION DE LA CRISTALERIA

Toda la cristalería, cubetas y tubería deben estar bien enjuagadas y libres de glicerol. Evite utilizar tubos con tapones de goma recubiertos de glicerol. La contaminación por glicerol elevará los resultados falsamente.

INTERFERENCIAS

Se evaluó la interferencia de hemólisis, lipemia e ictericia para este método en un analizador Hitachi 704.

Se estudiaron las concentraciones de hemoglobina de $0-155 \mu\text{mol/L}$ ($0-1000 \text{ mg/dL}$) con resultados aceptables a un nivel de $15.5 \mu\text{mol/L}$ (100 mg/dL). A una concentración de hemoglobina de $15.5 \mu\text{mol/L}$ (100 mg/dL) se produjo una interferencia positiva de 4.1% en una muestra de ácido úrico de $231 \mu\text{mol/L}$ (3.9 mg/dL).

Se estudiaron concentraciones de bilirrubina de $0-684 \mu\text{mol/L}$ ($0-40 \text{ mg/dL}$) con resultados aceptables a un nivel de $136.8 \mu\text{mol/L}$ (8.0 mg/dL). A una concentración de bilirrubina de $136.8 \mu\text{mol/L}$ (8.0 mg/dL) se determinó una interferencia positiva de 10% en una muestra de ácido úrico de $268 \mu\text{mol/L}$ (4.5 mg/dL).

Las muestras lipémicas producirán una falsa elevación de los valores de ácido úrico. Las muestras con lipemia visible no debieran ser utilizadas con este procedimiento.

Puede encontrar un resumen de la influencia de drogas en las pruebas de laboratorio clínico consultando a Young, D.S. (5).

PROCEDIMIENTO

Materiales Proporcionados

Se incluyen los reactivos necesarios para la determinación de 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 capaz de transmitir la luz a 520 nm.
3. Tubos de ensayo del tamaño adecuado.
4. Pipetas del tamaño adecuado.
5. Agua desionizada.

Condiciones

Analizadores automatizados

Longitud de onda	505 nm / 660 nm	
Temperatura	37°C	
Tipo de reacción	Punto final	
Tiempo de reacción	10 minutos	
Volumen de la muestra	25 μL	5 μL
Volumen de reactivo	2.5 mL	375 μL
Volumen total	2.525 mL	380 μL
Relación muestra/reactivo	1:100	1:75

Procedimiento

1. En tubos de ensayo por separado, pipetee 25 μ L de agua desionizada, del calibrador o del suero que se vaya a analizar.
2. Agregue 2.5 mL del reactivo y mezcle.
3. Incube por 10 minutos
4. Determine la absorbancia del calibrador y de cada muestra desconocida a 520 nm utilizando la muestra de agua desionizada como blanco de reactivo.

ESTABILIDAD DE LA MEZCLA DE LA REACCION FINAL

El color de la mezcla de reacción final es estable por 15 minutos.

CALIBRACION

El equipo no incluye un estándar de ácido úrico; sin embargo, debe usarse un estándar de ácido úrico y usarlo de acuerdo con las instrucciones para calibrar el procedimiento.

CONTROL DE CALIDAD

Se debe analizar un suero control con nivel normal y anormal en cada serie de muestras, y los resultados deberán caer dentro de ± 2 desviaciones estándar del valor establecido.

CALCULO Y RESULTADOS

Resultados

La concentración de ácido úrico se expresa en mmol/L (mg/dL).

Cálculo

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

A = absorbancia de la muestra desconocida

A_s = absorbancia del estándar

Ejemplo

$$\begin{aligned} \text{Ácido úrico mmol/L (mg/dL)} &= \frac{0.087}{0.209} \times 2.27 \\ &= 0.94 \text{ mmol/L (84 mg/dL)} \end{aligned}$$

0.087 = absorbancia de la muestra desconocida

0.209 = absorbancia del estándar

2.27 = concentración del estándar

Limitaciones

Una muestra con un nivel de ácido úrico que exceda el límite de linealidad, debe diluirse con solución salina a 0.9% y volver a analizarse incorporando el factor de dilución en el cálculo del resultado.

Se ha encontrado que muestras muy lipémicas afectan de manera adversa la reacción para los métodos de ácido úrico con GPO. Los sueros con niveles extremadamente altos de ácido úrico pueden falsamente indicar un resultado normal (5). Se recomienda diluir los sueros muy lipémicos con una parte de suero por 4 partes de solución salina antes de proceder con el análisis; esta dilución manual requerirá que el resultado final sea multiplicado por un factor de 5.

Esta prueba no es un análisis que cuente con blanco. Para la mayoría de las muestras frescas, refrigeradas, la contribución a la determinación de ácido úrico causada por el glicerol libre es relativamente baja y constante, es de mínima importancia clínica y por lo general no excede los 0.11 mmol/L (10 mg/dL).

VALORES ESPERADOS (7)

Los valores esperados de ácido úrico en suero varían de acuerdo con la edad, sexo, dieta, origen étnico y ubicación geográfica. El límite superior de valores de referencia para hombres y mujeres se han reportado de la manera siguiente:

Edad (años)	Hombres		Mujeres	
	mmol/L	mg/dL	mmol/L	mg/dL
20-29	0.50-2.27	44-201	0.41-1.63	37-144
30-39	0.56-3.62	51-321	0.44-1.99	39-176
40-49	0.62-3.70	55-327	0.51-2.42	45-214
50-59	0.62-3.23	58-286	0.59-2.62	52-262

Se sugieren estos valores como referencia. Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango normal 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 agregó trioleína a un grupo de sueros humanos para aumentar la concentración de ácido úrico en 0.30 mmol/L (27 mg/dL) y 0.61 mmol/L (54 mg/dL). La recuperación de la trioleína agrega fue del 96% en promedio.

Rango Lineal (NCCLS EP6-P)

La linealidad depende de la proporción muestra/reactivo utilizada. El procedimiento automatizado descrito da una linealidad de 11.3 mmol/L (1000 mg/dL) con una desviación de la línea estimada menor al 5%.

Límite Inferior de Detección

El límite más bajo de linealidad esperado es de 0.034 mmol/L (3 mg/dL).

Estudios de Precisión (NCCLS EP5-T2)

Se recopilaron los datos a dos niveles de sueros control utilizando un solo lote de reactivo en 40 corridas realizadas durante 20 días.

Nivel		DE Total		CV Total %	DE dentro de la corrida		CV dentro de la corrida %
mmol/L	mg/dL	mmol/L	mg/dL		mmol/L	mg/dL	
0.64	56.5	0.009	0.78	1.4	0.004	0.32	0.6
1.26	111.9	0.020	1.46	1.3	0.008	0.69	0.6

Exactitud

Se comparó el rendimiento de este método (y) y el de otro método similar (x) en un Hitachi 704. Las muestras de suero de 50 pacientes que oscilaron de 0.47 mmol/L (42 mg/dL) hasta 4.17 mmol/L (369 mg/dL) dieron un coeficiente de correlación de 0.9932. El análisis de regresión lineal dio la siguiente ecuación:

$$\text{Este método} = 0.9946 (\text{método de referencia}) - 0.01 \text{ mmol/L (0.8 mg/dL)}$$

REFERENCIAS

1. Fredrickson, D.S., et al., New Eng J. Med. 276:32, 1976.

2. Burtis, C., and Ashwood, E.R., Editors, Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd edition, W.B. Saunders Co., Toronto, 1999.
3. Fossati, P. and Prencipe, L., Clin. Chem. 28:2077, 1982.
4. Young, D.S., Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, AACC Press, Third Edition, Washington, 1990.
5. Shephard MDS, Whiting MJ Clin. Chem. 36(2):325-329, 1990.