

JUEGO DE REACTIVOS PARA ACIDO URICO

JUEGO DE REACTIVOS PARA ACIDO URICO

Para la determinación cuantitativa de ácido urico en suero.

INTRODUCCION

El ácido úrico es el producto final del metabolismo de las purinas. Cerca de la mitad del total del ácido úrico se elimina y se repone cada día por medio de la excreción urinaria y a través de la degradación microbiana en el tracto intestinal. Los aumentos de los niveles de ácido úrico se asocian con la retención de nitrógeno y la urea, creatinina y otros constituyentes no proteicos. La cuantificación de ácido úrico es una ayuda diagnóstica en la gota, disminución de la función renal, desórdenes microproliferativos y otras condiciones en las cuales la causa de la hiperuricemia no sea bien conocida.

El ácido úrico es comúnmente determinado por el método del fosfotungstato y el método de reducción del hierro. Debido a las interferencias séricas, actualmente se prefiere la técnica de uricase ya que es más específico para el ácido úrico y actúa solamente sobré el en la reacción.

PRINCIPIO

La reacción enzimática empleada en este método de ácido úrico es la siguiente:

Uricase

Acido úrico + O2 + 2H2O ----- > Alantoína + CO2 + H2O2

Peroxidasa

2H2O2 + 4-Aminoantipirina + DHBS ----- > Cromógeno + 4H2O

El Acido Urico es convertido por el uricase en alantoína y peróxido de hidrógeno. El peróxido de hidrógeno inicia el enlace de la 4-Aminoantipirina con el ácido sulfónico (DHBS) 3.5-Dicloro-2-hidrobnceno para formar un cromógeno que se mide a 520 nm y que es proporcional a la cantidad de peróxido de hidrógeno generado por el ácido úrico.

COMPOSICION DEL REACTIVO

Cuando se reconstituye tal y como se indica el reactivo para ácido úrico contiene lo siguiente:

1. Concentraciones referidas al reactivo constituido:

Reactivo de ácido úrico: 4-Aminoantipirina 4 nm 3.4 dicloro 2-Hidrobenceno-Sulfonato 2 nm. Estabilizador y tensoactivo, Uricase 450 U/L, Peroxidasa 10.000 U/L, Buffer pH 7.5.

2. Patrón de ácido úrico: (5 mg/dl)

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Para diagnóstico "In Vitro".

PRECAUCION: Los reactivos para diagnóstico "In vitro" pueden ser peligrosos. Manipúlese de acuerdo a un buen procedimiento de laboratorio que evite la ingestión y el contacto con ojos y piel.

2. Las muestras de suero deben considerarse infecciosas y deben manipularse adecuadamente.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- 1. El reactivo se almacena entre $2 8^{\circ}$ C.
- 2. El reactivo constituido es estable durante 2 días a temperatura ambiente y 30 días en refrigeración entre $2-8^{\circ}C$.

DETERIORO DEL REACTIVO

El reactivo debe desecharse si:

- Presenta turbidez, la cual puede ser signo de contaminación.
- 2. La humedad ha penetrado en el frasco.
- El blanco de reactivo tiene una absorbancia de 0.40 o mayor en 520 nm. Es normal un ligero color rosado en el reactivo.

RECOLECCION DE LAS MUESTRAS

- 1. Las muestras deben estar libres de hemólisis.
- 2. La contaminación bacteriana debe evitarse para evitar pérdidas de ácido úrico.
- 3. El ácido úrico en suero es estable durante 3 días entre 2 8°C, y hasta seis meses en congelación.

SUSTANCIAS QUE INTERFIEREN

- La bilirrubina y el ácido ascórbico pueden provocar valores falsamente inferiores.
- 2. Las muestras lipémicas pueden causar resultados elevados de ácido úrico.
- 3. Debe evitarse los tubos que contengan formaldehido como preservante.

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO PROVISTOS

- 1. Pipetas de precisión.
- 2. Porta tubos
- 3. Reloi.
- 4. Baño maría o bloque térmico.
- 5. Espectrofotómetro con capacidad de lectura a 520 nm.

INSTRUCCIONES GENERALES

El reactivo para ácido úrico puede ser utilizado tanto para método manual como para método automatizado.

PROCEDIMIENTO MANUAL

- 1. Reconstituya los reactivos de acuerdo a las instrucciones.
- 2. Rotule los tubos como blanco, patrón, controles, muestras, etc.
- 3. Pipetee 1.0 de reactivo listo en todos los tubos.
- 4. Incube todos los tubos a 37°C durante 3 minutos. (Este paso no es necesario, si tempera antes los reactivos)
- 5. Pipetee 0.025 ml (25 ul) de estándar al tubo correspondiente.
- 6. Pipetee 0.025 ml (25 ul) de muestra a los tubos correspondientes.
- 7. Incúbese todos los tubos durante 10 minutos.

 Después de incubados, ajuste el espectrofotómetro a cero con blanco de reactivo y a 520 nm. Lea las absorbancias de todos los tubos.

LIMITES DEL PROCEDIMIENTO

El reactivo es lineal hasta 25 mg/dl de ácido úrico. Las muestras que pasen de 25 mg/dl deben diluirse en 1:1 con solución salina y vueltas a procesar y los resultados obtenidos multiplicarlos por dos. Las muestras lipémicas pueden dar resultados falsamente elevados por tanto debe hacerse en blanco muestra.

Blanco muestra: Agregue 0.025 ml (25 ul) de suero en 1.0 ml de agua destilada. Lea y anote la absorbancia obtenida contra blanco agua y réstese de la lectura de reacción.

CALCULOS

A = Absorbancia

A de la muestra x Conc. Del estándar = Conc. de muestra en mg/dl

Ejemplo:

Si la absorbancia de la muestra = 0.170

Si la absorbancia del estándar = 0.180

Si la concentración del estándar = 5 mg/dl

Luego:

 $\frac{0.170}{0.180}$ x 5 = 4.7 mg/dl

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda incluir controles en cada corrida de muestras. Pueden utilizarse controles comerciales con concentraciones conocidas de ácido úrico. Si fallamos al obtener los valores esperados del control comercial, podemos estar en presencia de deterioro del reactivo, mal funcionamiento instrumental o errores de técnica.

VALORES ESPERADOS

De 1.5 a 7.0 mg/dl.

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

CARACTERISTICAS DEL EXAMEN

- 1. Linealidad: hasta 25 mg/dl.
- 2. Sensibilidad: Basada en una resolución instrumental de 0.001 de absorbancia este procedimiento tiene una sensibilidad de 0.03 mg/dl.
- 3. Comparación: Un estudio comparativo con otro método comercial enzimático para ácido úrico arrojó un coeficiente de correlación de 1.00 con una ecuación de regresión de y=1.02x-0.22.
- 4. Estudios de la precisión:

| Valor mg/dl | Dentro de la corrida | | |
|-------------|----------------------|------|--|
| | D.S. | C.V. | |
| 3.9 | 0.06 | 2.0% | |
| 7.9 | 0.04 | 1.0% | |

| | De corrida a corrida | |
|-------------|----------------------|------|
| Valor mg/dl | D.S. | C.V. |
| 3.9 | 0.08 | 2% |
| 8.4 | 0.5 | 6% |