

Método

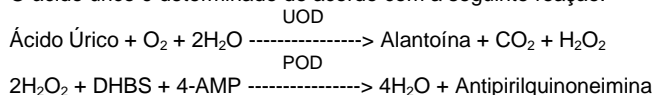
Enzimático colorimétrico - (Trinder).

Finalidade

Sistema enzimático para a determinação quantitativa do ácido úrico em amostras de soro, plasma, urina e líquido amniótico por reação de ponto final. **Somente para uso diagnóstico in vitro.**

Princípio

O ácido úrico é determinado de acordo com a seguinte reação:



O ácido úrico é oxidado pela uricase em alantoína e peróxido de hidrogênio. O peróxido de hidrogênio, na presença da peroxidase, reage com o DHBS e 4-aminoantipirina, produzindo uma antipirilquinonimina de cor vermelha, que é diretamente proporcional à concentração de ácido úrico da amostra.

Significado Clínico

O ácido úrico é um produto metabólito das purinas, ácidos nucleicos e nucleoproteínas. A concentração no organismo depende do equilíbrio entre a produção e a eliminação que é feita pelos rins. Algumas doenças, alterações bioquímicas, condições fisiológicas e fatores sociais estão associados a elevações na concentração do urato plasmático.

Na maioria dos pacientes com gota ocorre a hiperuricemia. A elevação de urato está relacionada a hiperlipidemia, obesidade, aterosclerose, diabetes mellitus e hipertensão, embora os mecanismos destas elevações ainda não sejam bem entendidos. As hipouricemias são pouco frequentes, ocorrendo na síndrome de Fanconi, doença de Wilson e doenças malignas como linfoma de Hodgkin e carcinoma broncogênico.

Reagentes

Reagente nº 1 - Reagente de Cor - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Tampão Fosfato (pH 7,0) 100 mmol/L, 4 - Aminoantipirina 2 mmol/L, Azida Sódica 7,5 mmol/L DHBS 10 mmol/L, Uricase > 1.000 U/L, Peroxidase > 18.000 U/L.

Reagente nº 2 - Padrão - Conservar entre 2 e 8°C. Manter bem vedado para evitar evaporação. Contém: Ácido Úrico 6,0 mg/dL. (pH 7,5).

Estabilidade, Condições de Armazenamento e Transporte

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo do produto, quando conservados na temperatura recomendada (2 a 8°C), bem vedados e se evitado de contaminação durante o uso. Antes de serem abertos, os reagentes podem ser transportados em temperatura que não exceda 30°C, até um limite de 120 horas. **Não congelar.**

Cuidados Especiais e Precauções

- As amostras a serem analisadas devem ser tratadas como material potencialmente infectante.
- Utilizar os EPI's de acordo com as Boas Práticas de Laboratório Clínico.
- O Reagente de Cor (1) contém azida sódica que é tóxica e irritante para pele e mucosa.
- As informações de Descarte, Segurança e Primeiros Socorros estão descritas na Ficha Individual de Segurança de Produtos Químicos (FISPQ) deste produto, disponível em www.bioanalitica.com.br ou pelo telefone 0800 006 8111.
- Reagentes de lotes diferentes não devem ser misturados.
- Não trocar as tampas dos frascos dos reagentes, a fim de evitar contaminação cruzada.
- Não utilizar os reagentes quando se apresentarem turvos.
- Evitar deixar os reagentes fora das condições de armazenamento especificadas, quando os mesmos não estiverem em uso.
- O tempo de reação, pipetagens e temperatura de trabalho são muito importantes para obtenção de resultados corretos.
- Usar pipetas de vidro e ponteiros descartáveis específicas para cada amostra, controle, padrão/calibrador e reagente.
- O nível de água do banho-maria deve ser superior ao dos tubos de ensaio que contém as reações.

Materiais Necessários e Não Fornecidos

- Analisador bioquímico automático, semiautomático ou espectrofotômetro;
- Pipetas de vidro e/ou automáticas;
- Ponteiros,
- Tubos de ensaio;
- Cronômetro;
- Banho-maria.

Amostra

Soro ou plasma (EDTA/Heparina), urina e líquido amniótico. O ácido úrico é estável por 3 dias armazenada entre 2 e 8°C e 6 meses a 10°C negativos, quando livres de contaminação.

Para descarte dos reagentes e materiais biológicos deve-se seguir as normas locais, estaduais ou federais de proteção ambiental.

Interferências e Limitações

A concentração de ácido úrico apresenta aumento significativo no dia-a-dia e em intervalos de tempo diferentes em um mesmo indivíduo. Jejum prolongado, stress, obesidade e ingestão aguda de álcool nas últimas 24 horas, são fatores que proporcionam o aumento do ácido úrico.

O uso de medicamentos como o Ácido Ascórbico (Vitamina C) interferem na reação, pois competem com o consumo de H₂O₂, fornecendo valores falsamente diminuídos. Por esta razão, deve-se suspender o seu uso pelos menos 48 horas antes da coleta da amostra.

Concentrações de bilirrubina até 10,1 mg/dL e triglicérides até 1216 mg/dL não produzem interferências significativas. Valores de hemoglobina maior que 50 mg/dL e ácido ascórbico produzem interferências significativas nas amostras.

Preparação dos Reagentes

Os reagentes estão prontos para uso.

Procedimento Técnico

Equipamentos Automáticos

Para uso em analisadores automáticos, verificar o protocolo de automação no site www.bioanalitica.com.br ou através do SAC.

Nota: Recomendamos o uso do Calibrador – Ref. BA052 para calibração. Para avaliar a precisão das dosagens, recomendamos o uso do Controle N – Ref. BA115 e Controle P – Ref. BA118.

Método de Ponto Final

Identificar 3 tubos de ensaio: B (Branco), A (Amostra), P (Padrão) e proceder como a seguir:

	Branco	Amostra	Padrão
Amostra	---	20 µL	---
Padrão (2)	---	---	20 µL
Reagente de Cor (1)	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

Homogeneizar bem e colocar em banho-maria 37°C por 5 minutos. Ler a absorbância da Amostra e do Padrão em 505 nm (490 - 540 nm), acertando o zero com o Branco. A cor é estável por 30 minutos.

Esta técnica é adequada para fotômetros cujo volume mínimo de solução para leitura é igual ou menor que 1,0 mL. Verificar a necessidade de ajuste do volume, e modificar proporcionalmente para não alterar os cálculos e o desempenho do teste. Volumes de amostra menores que 0,01 mL são críticos em aplicações manuais, pois aumentam a imprecisão da medição.

Cálculos

Ácido Úrico (mg/dL) = (Absorbância da Amostra ÷ Absorbância do Padrão) × Concentração do Padrão

Fator de Calibração = Concentração do Padrão ÷ Absorbância do Padrão

Exemplo com Padrão

Absorbância da Amostra = 0,215

Absorbância do Padrão = 0,180

Concentração do Padrão = 6,0 mg/dL

Ácido Úrico = (0,215 ÷ 0,180) × 6 = 7,2 mg/dL

Exemplo com Fator de Calibração

Fc = 6 ÷ 0,180 = 33,3

Ácido Úrico = 0,215 × 33,3 = 7,2 mg/dL

Dosagem do Ácido Úrico na Urina

Homogeneizar a urina e separar uma alíquota de 10 mL e acertar o pH entre 7 e 9 com NaOH 5%. Aquecer em banho-maria por 10 minutos a 56°C para dissolver os cristais de urato e ácido úrico. Diluir a urina 1:10 (0,1 mL de urina + 0,9 mL de água destilada ou deionizada).

Multiplicar o resultado obtido por 10. Proceder a dosagem como descrito para o soro.

Ácido Úrico (mg/24 h) = (mg/dL x volume urinário em mL) ÷ 100

Características do Desempenho

Comparação de Métodos

O método foi comparado com outro produto com metodologia semelhante através de 40 amostras de soro humano. Através de modelos estatísticos, os resultados foram analisados e resultaram na equação de regressão linear onde Método Bioanalítica (y) = 0,094 + 0,958 * Método comparativo (x) e coeficiente de correlação igual a 0,996.

Sensibilidade

Uma amostra proteica não contendo Ácido Úrico, foi utilizada para calcular o limite de detecção do ensaio. A média encontrada foi 0,0650 mg/dL equivalente a 20 determinações, com desvio padrão de 0,0095 mg/dL. A sensibilidade, que indica o limite de detecção do método, corresponde à média mais 3 vezes o desvio padrão, que é igual a 0,0935 mg/dL.

Linearidade

A reação é linear até 20 mg/dL. Para amostras com valores acima de 20 mg/dL, diluir a amostra com Cloreto de Sódio 150 mmol/L (0,85%), repetir a dosagem e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

Urina – Diluir a amostra (já ajustado p pH entre 7,0 e 9,0 e aquecida 10 minutos a 56°C) 1:20 ou 1:40 com água destilada ou deionizada e repetir a medição. Multiplicar o resultado por 20 ou 40 conforme diluição previamente utilizada.

Repetitividade

A repetitividade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (mg/dL)	1,21	4,72	8,58
Desvio Padrão (mg/dL)	0,01	0,01	0,02
Coefficiente de Variação (%)	0,61	0,27	0,29

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas durante 20 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração Média (mg/dL)	1,04	2,98	6,88
Desvio Padrão (mg/dL)	0,07	0,08	0,11
Coefficiente de Variação (%)	6,39	2,53	1,67

Valores de Referência

Estes valores de referência devem ser usados apenas como orientação. Sugere-se que cada laboratório estabeleça seus próprios valores para população atendida. Os resultados dos testes devem ser analisados por um profissional responsável.

Soro ou Plasma

Crianças	Homens	1,5 a 6,0
	Mulheres	0,5 a 5,0
Adultos	Homens	2,5 a 7,0
	Mulheres	1,5 a 6,0

Urina

250 a 750 mg/24 horas

Para converter os valores de mg/dL em µmol/L (SI) multiplicar por 59,5.

Controle Interno da Qualidade

O laboratório clínico deve possuir um programa interno de controle da qualidade, para assegurar que todos os procedimentos, normas, limites e tolerância para variações sejam claramente definidos. Ressaltamos que todos os sistemas de medição apresentam uma variabilidade analítica, que deve ser monitorada pelos laboratórios. Portanto, é recomendável a utilização de controles, que permitam avaliar a precisão e a exatidão das dosagens. Sugere-se utilizar soluções estabilizadas da linha de controles e calibradores da Bioanalítica.

Observações

- A limpeza e secagem adequadas do material usado são fatores fundamentais para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
 - A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes. A limpeza da vidraria deve ser feita com detergente neutro. O enxágue deve ser exaustivo sendo os últimos com água destilada ou deionizada.
 - A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, a água deve ser do Tipo II, com resistividade > 1 megohms/cm ou condutividade < 1 microsiemens /cm e concentração de silicatos < 0,1 mg/L. Para o enxágue inicial da vidraria, a água pode ser do Tipo III, com resistividade > 0,1 megahoms ou condutividade < 10 microsiemens.
- No enxágue final, utilizar água do Tipo II. Coluna deionizadora com sua capacidade saturada libera água alcalina, vários íons e também substâncias com grande poder de oxidação ou redução que deterioram os reagentes em poucos dias ou mesmo horas, alterando de maneira imprevisível os resultados. Assim, é fundamental estabelecer um programa de controle da qualidade da água.

Referências Bibliográficas

- 1 - Trinder, P., Ann. Clin. Biochem., 6-24, 1969.
- 2 - Duncam PH, Gochman N, Cooper T Smith E, Sayze D Clin Chem 1982;28:284-290.
- 3 - Tonks, D. B., Quality Control in Clinical Laboratories, Wanner-Chilcott Laboratories, Diagnostic Reagents Division, Scarborough. Canadá, 1972. 1983.
- 4 - Elin RJ, Jonhson E, Chesler R Clin Chem 1982; 28:2089.
- 5 - Westgard JO, Barry PL, Hunt MR. Clin Chem 1981; 27:493-501.
- 7 - Kaplan A, Szabo LL, Opheim KE. Clinical Chemistry: Interpretation and Techniques. Philadelphia, Lea & Febiger, 1988:140-143.
- 8 - Kabasakalian P, Kalliney S Westcott A. Clin Chem 1973;19:522.
- 9 - Bioanalítica: Dados internos de arquivo do P&D.

Termos e Condições de Garantia

A Bioanalítica Diagnóstica garante o desempenho e a qualidade deste produto, dentro das especificações, até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que utilizados, armazenados e transportados nas condições adequadas.

Apresentações

Ref.	Volume	Reagente 1	Reagente 2
BA010-100	100 mL	1 x 100 mL	1 x 3 mL
BA010-200	200 mL	2 x 100 mL	1 x 3 mL

Bioanalítica Diagnóstica S/A.

Rua Álvares da Silva, 12 - União

CEP: 31160-360 – Belo Horizonte MG - Brasil

Tel. +55 31 3657-0051

www.bioanalitica.com.br

E-mail: bioanalitica@bioanalitica.com.br

CNPJ: 20.264.948/0001-61 – Indústria Brasileira

SAC: 0800 006 8111

E-mail: sac@bioanalitica.com.br

Revisão: Maio / 2022.