



infetantes, portanto sugerimos manuseá-las seguindo as normas estabelecidas de Biossegurança.

Quimicontrol Anormal Ebram Cód. 7024/12024 e 7031/12031.

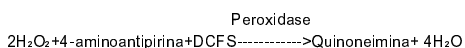
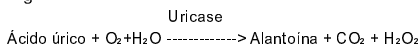
QUIMIURIC - Ácido Úrico Uricase/Peroxidase

Finalidade:

Reação enzimática para determinação quantitativa de ácido úrico em amostras de soro, plasma e urina humanos. Somente para uso diagnóstico "in vitro".

Princípio:

O método usa a uricase, peroxidase e cromógeno DCFS (diclorofenolsulfonato) para produzir o produto final colorimétrico. O ácido úrico é oxidado pela uricase à alantoina e peróxido de hidrogênio. O DCFS + 4 - aminoantipirina + peróxido de hidrogênio, na presença da peroxidase, produz o corante quinoneimina que é medido a 520 nm. A intensidade de cor é proporcional à concentração do ácido úrico na amostra. O esquema da reação é o seguinte:



Metodologia:

Uricase/Peroxidase

Significado Clínico:

O ácido úrico no plasma é filtrado pelos glomérulos e aproximadamente 90% reabsorvido em pelos túbulos. Representa o produto final do metabolismo das purinas. O teor de ácido úrico no plasma é muito influenciado por fatores extra-renais, além dos renais. Sua dosagem é muito útil no diagnóstico da gota, na qual os níveis no soro de ácido úrico são altos. Há ocasiões, nessa doença, em que se encontram níveis normais no soro, mas acredita-se que a repetição das dosagens revele sempre hiperuricemia em alguma fase da moléstia. Observa-se também hiperuricemia, sempre que exista aumento do metabolismo das nucleoproteínas, como na leucemia e policitemia. O aumento dos níveis de ácido úrico no soro é um achado constante na hiperuricemia idiopática familiar, da qual parece haver pelo menos dois tipos (um ligado à produção aumentada, outro, à excreção diminuída).

Reagentes:

Reagente único pronto para uso. Conservar entre 2 - 8 °C. Contém: Fosfato 100 mmol/L, pH 7,8, uricase > 0,5 KU/L, peroxidase > 0,5 KU/L, ascorbato oxidase > 1 KU/L, 4-aminoantipirina 0,5 mmol/L, DCFS 2 mmol/L, tensoativos não iônicos 2 g/L. Biocidas.

Padrão (cód 3000): Conservar entre 2 - 25°C. Solução aquosa contendo concentração padrão de ácido úrico rastreável ao material de referência padrão NIST. Verifique a concentração do padrão no rótulo do frasco.

Os reagentes não abertos são estáveis até a data de vencimento impressa no rótulo do produto e on board (em um compartimento refrigerado do analisador) possuem estabilidade de aproximadamente 30 dias, sendo que os mesmos devem ser armazenados protegidos da luz. Durante o manuseio, os reagentes estão sujeitos a contaminação de natureza química e microbiana que podem provocar redução da estabilidade.

Precauções e Cuidados Requeridos:

Este reagente deve ser usado somente para diagnóstico "in vitro". Não pipetar com a boca. Evitar contato com a pele e roupa. No caso de contato com os olhos, lavar com grande quantidade de água e procurar auxílio médico. Deve-se monitorar a temperatura do ambiente de trabalho bem como o tempo de reação para obtenção de resultados corretos. Não usar se a absorbância do branco ultrapassar 0,200 quando medido em 520 nm (cubeta de 1 cm) ou se houver dificuldade em conseguir os valores estabelecidos para o soro controle fresco.

Material Necessário não Fornecido:

1. Banho-maria ou analisador capaz de manter uma temperatura de 37°C e capaz de medir absorbância em 520 nm (510 - 530nm).
2. Pipetas para medição de amostras e reagente.
3. Água destilada/deionizada.
4. Consumíveis do analisador quando usado.
5. Calibradores e soros controle.
6. Medidor de tempo.

Amostra:

É recomendado a utilização de soro livre de hemólise, plasma obtido com Heparina ou EDTA e urina. O ácido úrico no soro e no plasma é estável por 5 dias se mantido entre 2 - 8°C e por até 6 meses à -20°C.

Urina: No recebimento da amostra de urina o pH dever ser verificado. Se o pH for menor que 8,0, deve-se ajustá-lo com solução de NaOH 0,01N, para evitar a precipitação de urato. É necessário realizar uma diluição de 1:20 na urina, com água destilada, antes de realizar análise. Todas as amostras e controles são considerados potencialmente

Preparo do Paciente:

É recomendado um jejum de 8 horas. Todavia, poderá ser modificado segundo orientação médica.

Interferências:

Bilirrubina até 10 mg/dL, hemoglobina 20 g/L, lipemia até 20 g/L e ácido ascórbico até 20 µM não interferem significativamente no resultado. Algumas drogas e substâncias afetam a concentração do ácido úrico, sugerimos consultar Young et al.

Parâmetros do Sistema:

Temperatura: 37°C
Comprimento de Onda: 520 nm (510 - 530nm).
Tipo de Reação: Ponto final
Direção: Crescente
Relação Amostra/Reativo: 1:40
Vol. Amostra: 25 µL
Vol. Reagente: 1,0 mL
Tempo de Incubação: 5 minutos

Calibração:

Utilizar Quimicalib Ebram Cód.7023/12023 ou o padrão que acompanha o kit, para kits com padrão. A concentração de ácido úrico Quimicalib é rastreável ao método de referência proposto pelo CLSI e no padrão ao Material de Referência Padrão NIST.

Procedimento Automatizado:

Aplicação no sistema automatizado: vide manual para utilização do equipamento e instruções de uso do reagente. Aplicação no sistema semi-automático: proceder como demonstrado a seguir no procedimento manual até o item 2 (incubação), em seguida utilizar o equipamento para leitura, seguindo protocolo analítico específico baseado no item Parâmetros do Sistema.

Procedimento Manual:

1. Preparar 3 tubos de ensaio e realizar os procedimentos conforme abaixo:

	Branco	Padrão	Amostra/S.C.
Água destilada	25µL	-	-
Padrão	-	25µL	-
Amostra/S.C.	-	-	25µL
Reagente	1,0mL	1,0mL	1,0mL

2. Homogeneizar os tubos e deixar em Banho-Maria (BM) 37°C por 5 minutos. O nível de água no BM deve ser superior ao nível de reagente nos tubos de ensaio.

3. Zerar o aparelho com o branco do reagente a 520nm (510 - 530 nm), proceder as leituras registrando as absorbâncias do padrão, amostra e soro controle (S.C.).

A reação é estável por 30 minutos protegida da luz.

* Soros fortemente lipêmicos exigem um branco de amostra. Adicione 0,025 mL(25 µL) de amostra a 1,0mL de solução salina, homogeneizar e ler a absorbância contra água. Subtraia este valor da absorbância do paciente para obter a leitura corrigida.

Obs.: Procedimento sugerido para espectrofotômetros que requerem volume mínimo de 1,0 mL e podem ser ajustados proporcionalmente sem influência no desempenho do teste. Salientamos que volumes de amostra menores do que 10 µL aumentam a imprecisão da medição em aplicações manuais.

Cálculos:

(Abs.=Absorbância)
(Conc. = Concentração)

$$\text{Ácido Úrico da Amostra (mg/dL)} = \frac{\text{Abs. Amostra}}{\text{Abs. Padrão}} \times \text{Conc. do Padrão (mg/dL)}$$

Cálculo para Urina de 24 horas:

$$\text{Urina: Ácido Úrico Amostra(mg/L) X fator diluição X Volume (L)}$$

Obs.: mg/L = mg/dL x 10

Exemplo:

Abs. Amostra = 0,071
Abs. Padrão = 0,30
Conc. Padrão = 12,1 mg/dL
Volume urinário 24 hs = 0,95 L
OBS : mg/L = mg/dl x 10

Ac Urico Amostra = (0,071 / 0,3) x 12,1 = 2,8 mg/dl
Ac Urico Amostra = 2,8 mg/dl = 28,0 mg/L

Ac Urico na Urina = 28 x 10 x 0,95
Ac Urico na Urina = 266 mg/24hs

Linearidade:

Quando executado de acordo com o recomendado, o teste é linear até 30 mg/dL.

Amostras com valores superiores a 30 mg/dL devem ser diluídas com solução salina a ponto de ficarem entre 0,028 e 30 mg/dL e os resultados devem ser multiplicados pelo fator de diluição.

Controle de Qualidade:

Cada laboratório deve manter um programa interno de qualidade que defina objetivos, procedimentos, normas, limites de tolerância e ações corretivas. Deve-se manter também um sistema definido para se monitorar a variação analítica do sistema de medição. Aconselhamos o uso dos soros controle Quimicontrol Normal em

Valores Esperados:

Crianças: 2,0 - 5,5 mg/dL
Adulto Masculino: 3,5 - 7,2 mg/dL
Adulto Feminino: 2,6 - 6,0 mg/dL
Urina: 250 - 750 mg/24 h

Estes valores são dados unicamente como título orientativo. É recomendado que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.

Estudos Comparativos:

Estudos executados entre este procedimento e uma metodologia similar produziram os seguintes resultados estatísticos:

Número de Amostras:	30
Intervalo dos resultados	2,9 - 11,3 mg/dL
Coefficiente de Correlação:	0,99
Inclinação:	1,04
Intercepta:	0,80 (mg/dL)

Precisão:

Estudos de precisão foram executados com dois níveis (normal e patológico) sendo que cada amostra fora processada por 10 vezes e os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

N=10	Nível 1	Nível 2
Média (mg/dL)	6,3	11,2
D.P. (mg/dL)	0,36	0,30
C.V. (%)	5,7	2,7

Exatidão:

As amostras foram processadas por 10 dias consecutivos, uma vez por dia em duplicata. Os seguintes dados estatísticos foram encontrados:

N=10	Nível 1	Nível 2
Média (mg/dL)	6,6	11,6
D.P. (mg/dL)	0,40	0,54
C.V. (%)	6,1	4,7

Sensibilidade Metodológica:

0,028 mg/dL

Especificidade:

Como as amostras foram selecionadas aleatoriamente em pacientes de ambulatório e hospitalizados, pode-se inferir que o método tem uma especificidade metodológica adequada.

Observações:

1. A limpeza e a secagem adequadas do material utilizado são fatores fundamentais para estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
2. A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, deve ter resistividade ≥ 1 mega ohm ou condutividade ≤ 1 microsiemens e concentração de silicatos $< 0,1$ mg/L (água tipo II). Para o enxágue da vidraria a água pode ser do tipo III, com resistividade $\geq 0,1$ megaohms ou condutividade ≤ 10 microsiemens.No enxague final utilizar o água tipo II.

Apresentação:

Linha Bioquímica Geral: 1 x 200mL + 1 x 1,0mL
Linha Bulk: 1 x 500mL
Linha Quimiset: 4 x 45mL

Para mais informações sobre sistemas automáticos, entrar em contato com o SAC EBRAM - tel. (011) 2291-2811, sac@ebram.com ou www.ebram.com

Referência Bibliográfica:

1. Tietz, Textbook of Clinical Chemistry, Philadelphia W.B. Saunders, 2nd. Ed. (1994)
2. Searcy RL; Diagnostic Biochemistry, McGraw-Hill, New York, NY (1969)
3. Henry RJ Common C, Winkelman JW (eds) Clinical Chemistry, Principles and Techniques. Harper & Ro, Hagerstown, MD (1974).
4. Balls ME; Adv Clin Chem 18:213 (1976)
5. Folin, D., Dennis, W. J. Biol. Chem. 13:469 (1913)
6. Caraway, W.T. Clin. Chem. 4:239 (1963)
7. Morin, L.G. Clin Chem. 20:51 (1974)
8. Morin, L.G. Clin. Chem. 60:691 (1973)
9. Brochner-Mortenson, K., Medicine 19:461 (1940)
10. Klackar, H.M. J. Biol. Chem. 167:429 (1947)
11. Praetorius, E., Pouldon, H., Scand. J. Clin. Invest 5:273 (1953)
12. Young, D.S. et al. Clin. Chem. 21:1D (1975)
13. Miller, O., Gonçalves, R.R., Laboratório para o Clínico, 8 ed., Atheneu, (1998).
14. Arquivos da EBRAM.

