

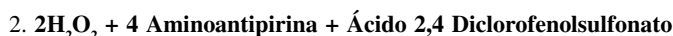
FINALIDADE

Sistema enzimático para dosagem do Ácido Úrico no soro e demais líquidos biológicos.

Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO

O Ácido Úrico no soro é quantificado através das seguintes reações enzimáticas:



$\xrightarrow{\text{peroxidase N (4-antipiril)-2, Cloro -}}$

- 4 Sulfonato-p-benzoquinonamonoimina.

O produto formado pela oxidação da 4-Aminoantipirina na reação 2 é de coloração avermelhada e a intensidade da cor diretamente proporcional à concentração de Ácido Úrico no soro. A cor vermelha formada é medida em espectrofotômetro ou fotocolorímetro, com absorção máxima, em 510nm ou filtro verde.

PARTICULARIDADES DO SISTEMA

O presente método reúne a especificidade da uricase aliada à simplicidade da reação de Trinder. Tem-se um método direto para dosagem do Ácido Úrico em 10 minutos. Urato 160 é apresentado sob forma de reagente único e concentrações otimizadas de uricase. Adição de surfactante impede que haja turbidez na presença de soros lipêmicos.

METODOLOGIA

Uricase - Trinder modificado.

REAGENTES

Tampão/enzimas: cada frasco contém 0,32g de mistura homogênea, em pó, de tampão fosfato, 4-Aminoantipirina, Ácido 2,4- Diclorofenolsulfonato, acrescido das enzimas Uricase e Peroxidase.

Surfactante: solução de Triton X-100 a 10%

Solução padrão 7mg/dL: solução padrão de Ácido Úrico 7mg/dL.

APRESENTAÇÃO

Tampão/enzima	8 x 0,32g
Surfactante	1 x 3mL
Solução padrão 7mg/dL	1 x 3mL

NÚMERO DE TESTES

Manual	- 80 testes (50µL amostra/2mL Tampão/Enzimas)
	160 testes (25µL amostra/1mL Tampão/Enzimas)
Automação	600 testes (*)

(*) A quantidade de testes na automação é variável de acordo com o equipamento.

Protocolos de automação encontram-se disponíveis no site Doles ou através do Serviço de Atendimento ao Consumidor.

EQUIPAMENTOS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

- Espectrofotômetro ou fotocolorímetro capaz de medir a absorvância em 520nm ou filtro verde.
- Tubos de ensaio.
- Pipetas graduadas.
- Pipeta semiautomática de 50µL.
- Ponteiras descartáveis.
- Água destilada ou deionizada.
- Banho maria (37°C).
- Cronômetro.

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Tampão/enzimas: armazenar à temperatura de 2-8°C. Estável na forma de pó até a data de vencimento indicada no rótulo do frasco. Após a sua reconstituição armazenar à temperatura de 2-8°C. A solução permanece estável por 14 dias, obedecidas as condições de preparo e armazenamento.

Surfactante: armazenar à temperatura de 2-8°C. Estável até a data de vencimento indicada no rótulo do frasco.

Solução padrão 7mg/dL: armazenar à temperatura de 2-8°C. Estável até a data de vencimento indicada no rótulo do frasco.

CUIDADOS E PRECAUÇÕES COM O USO DOS REAGENTES

Todos os reagentes são somente para **uso diagnóstico *in vitro***. Seu manuseio deve ser cuidadoso evitando-se contato com pele e mucosas. Em caso de contaminação acidental, lavar a área afetada em água corrente. O descarte do material utilizado deverá ser feito obedecendo-se aos critérios de biossegurança estabelecidos pelo laboratório, de acordo com as normas locais, estaduais ou federais.

Observar ainda a simbologia constante nos rótulos do produto:



Irritante

AMOSTRA

Soro, urina, líquido (sinovial, amniótico). O ácido úrico permanece estável em soro e urina por 3 dias, entre 2-8°C ou por 6 meses a 20°C negativos. Amostras de plasma não devem ser utilizadas pois fornecem resultados diminuídos. Evitar amostras com traços de hemólise. A amostra de urina (24hs) deve ser colhida com uso de conservantes (sugere-se a coleta em frasco contendo 5g de bicarbonato de sódio).

Todas as amostras biológicas devem ser consideradas como potencialmente infectantes.

PROCEDIMENTO TÉCNICO

Preparo da solução tampão/ enzimas para uso:

Adicionar a um frasco tampão/enzimas 20mL de água destilada e 2 gotas de surfactante. Agitar levemente até dissolver. A solução permanece estável por 14 dias, se mantida no refrigerador (2-8°C). Absorvância do tampão/enzimas (uso) até 0,200 não interferem nos resultados finais. Após reconstituição, obtém-se tampão fosfato 0,1M, pH 7,4, 4-Aminoantipirina 0,3mmol, Ácido 2,4 Diclorofenolsulfonato 2mmol, com um mínimo de 120 U de uricase e 1.000 U de peroxidase por litro. Contém estabilizadores.



URINA

Diluir a amostra 1:10 (1mL de urina + 9mL de água destilada ou deionizada). Para se ter a concentração final em mg/dL, efetuar o procedimento técnico e multiplicar o valor encontrado por 10.

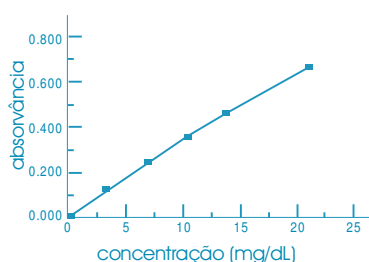
Identificar 3 tubos de ensaio com **B (branco)**, **T (teste)** e **P (padrão)**.

Proceder como segue:

	B	T	P
Solução tampão/ enzimas	2,0mL	2,0mL	2,0mL
Solução padrão	-	-	50µL
Amostra	-	50µL	-

Misturar por agitação e incubar por 10 minutos, em banho maria, a 37°C. Proceder à leitura das absorvâncias em espectrofotômetro ou fotocolorímetro, em **520nm** ou **filtro verde (460-540)**, zerando o aparelho com o branco. A cor desenvolvida permanece estável por 30 minutos à temperatura ambiente (20-30°C).

CURVA DE CALIBRAÇÃO



Padrão	Absorvância	Conc. (mg/dL)
1	0,000	0
2	0,118	3,5
3	0,236	7
4	0,354	10,5
5	0,470	14
6	0,675	21

Obs.: Não utilizar esta curva para determinar o resultado de seu ensaio.

- A curva de calibração é a representação gráfica da relação entre os valores das absorvâncias com os valores das concentrações de um conjunto de soluções padrão. São necessários três passos para confeccioná-la: (1) preparo das soluções padrão; (2) medição dos valores de absorvância das soluções padrão, de acordo com o especificado no procedimento técnico da presente instrução de uso, e (3) montagem de um gráfico, em papel especial, linear, onde são relacionados os valores de absorvância com os de concentração, conforme demonstrado na figura acima.

As dosagens para montagem da curva foram feitas em um espectrofotômetro "Ultraspec III", Pharmacia Biotec, comprimento de onda de 520nm e cubetas com passagem de luz de 10mm.

- A curva de calibração demonstra a linearidade da reação até uma determinada concentração, na qual pode ser

determinado um fator de calibração (F), de acordo com a Lei de Beer.

- A reação é linear até 14mg/dL (ver curva acima). Obtendo-se valores mais elevados, diluir a amostra com solução fisiológica e proceder à nova dosagem. Multiplicar o valor encontrado pelo fator de diluição.**
- O kit de Urato 160 Doles possui padrão no intervalo de linearidade da metodologia adotada de Uricase-Trinder modificado. O laboratório deve realizar o ensaio com o padrão que acompanha o kit e calcular seu fator de calibração (F), de acordo com o demonstrado nos cálculos.**
- O fator deve ser refeito periodicamente e a cada lote do produto.**
- Os padrões utilizados na curva de calibração foram ajustados contra "Calibrador Roche" lote T1237A.

CÁLCULOS

$$\text{Ácido Úrico (mg/dL)} = \frac{\text{absorvância teste}}{\text{absorvância padrão}} \times 7$$

Exemplo:

Leituras:

Padrão : 0,237

Teste : 0,194

$$\text{Ácido Úrico (mg/dL)} = \frac{0,194}{0,237} \times 7 = 5,74$$

Como a reação corada segue estritamente a lei de Beer, basta a determinação de um **fator (F)** para cálculo dos resultados.

$$\text{Fator (F)} = \frac{7}{\text{absorvância padrão}}$$

$$\text{Ácido Úrico (mg/dL)} = \text{absorvância teste} \times F$$

Para a determinação do fator, recomenda-se dosar em triplicata o padrão, ler as absorvâncias e tirar a média aritmética das mesmas.

Exemplo:

Leituras:

Padrão : 0,238; 0,237; 0,236

$$\text{Média aritmética} = \frac{0,238 + 0,237 + 0,236}{3} = 0,237$$

$$\text{Fator (F)} = \frac{7}{0,237} = 29,54$$

Leitura do teste = 0,194

$$\text{Ácido Úrico (mg/dL)} = 0,194 \times 29,54 = 5,73$$



CÁLCULO PARA URINA

Volume urinário de 24 horas = 1.400mL.

$$\text{Ácido Úrico- urina (mg/dL)} = \frac{\text{absorvância teste}}{\text{absorvância padrão}} \times 7 \times 10$$

Exemplo:

Leitura:

Absorvância teste = 0,080

Absorvância padrão = 0,237

$$\text{Ácido Úrico- urina (mg/dL)} = \frac{0,080}{0,237} \times 7 \times 10 = 23,63$$

Cálculo para excreção de Ácido Úrico em urina de 24h:

Ácido Úrico/urina de 24h =

$$\frac{\text{Ácido Úrico (mg/dL)} \times \text{vol. urina 24h (mL)}}{100} = \frac{23,63 \times 1.400}{100}$$

Ácido Úrico/urina de 24h = 331.

EXPRESSÃO DOS RESULTADOS EM UNIDADES S.I.

Ácido Úrico (mmol/L) = Ácido Úrico (mg/dL) x 0,0595

LIMITAÇÕES DO SISTEMA

- Para se obter ótimo desempenho do sistema, é necessário que o procedimento técnico seja rigorosamente seguido conforme instruções de uso. Qualquer alteração poderá levar a resultados errôneos.
- Uso recente de contraste para raio x pode levar a valores baixos de ácido úrico.
- Algumas drogas como: álcool, ácido ascórbico (vitamina C), aspirina (baixas doses), cafeína, diuréticos, epinefrina, levodopa, metildopa (aldomet) e teofilina, podem elevar os valores de ácido úrico.
- Algumas drogas como: alopurinol, aspirina (altas doses), corticoesteróides, estrógeno, infusão de glicose e manitol, podem diminuir os valores de ácido úrico.

CONTROLE DA QUALIDADE DO SISTEMA

1. A limpeza e a secagem adequada do material a ser utilizado são de fundamental importância para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos.
2. A água utilizada na limpeza do material, no preparo dos reagentes e na dosagem deve ser de boa qualidade.
3. Colunas deionizadoras saturadas liberam íons diversos, aminas e agentes oxidantes, que deterioram os reagentes.
4. As pipetagens devem ser precisas.
5. O nível da água do banho maria deve ser superior ao nível dos reagentes nos tubos de ensaio. A temperatura (37°C) deve ser rigorosamente observada.
6. O uso de soro controle de referência deve ser uma prática rotineira do laboratório. Recomenda-se utilizar um soro controle com valor na faixa de normalidade (**soro controle N - Doles**) e outro soro controle de valor elevado (**soro controle P - Doles**).

VALORES DE REFERÊNCIA

É recomendado que cada laboratório estabeleça sua própria faixa de valores de referência na população atendida. Como orientação, sugerimos os seguintes valores:

Soro

Homens adultos	2,5 - 7,0mg/dL
Mulheres adultas	1,6 - 6,0mg/dL
Crianças	2,5 - 5,5mg/dL
Recém-nascidos	2,0 - 6,2mg/dL
Valores críticos	> 10mg/dL

Urina

Adultos/Idosos/Crianças 250 - 750mg/urina 24 horas

SIGNIFICADO CLÍNICO

O Ácido Úrico é um metabólito das purinas. Várias patologias apresentam Ácido Úrico elevado, sendo três as principais: gota, aumento na renovação de Ácido Nucleico e problemas renais.

A gota primária é uma doença encontrada principalmente em homens. Sua incidência é maior entre os 30 e 50 anos. Devido às altas taxas de Ácido Úrico (acima de 10mg/dL), tais pacientes são susceptíveis à formação de cálculos renais. Outra causa comum de hiperuricemia são as enfermidades que aumentam a renovação de Ácido Nucleico, como: leucemia, linfoma, mieloma múltiplo ou policitemia.

A hiperuricemia é uma ocorrência frequente na toxemia da gravidez.

Níveis elevados podem ocorrer também após a ingestão de dieta rica em purinas (fígado, rins, mariscos, etc.).

A enfermidade renal crônica promove elevações nos níveis de ácido úrico.

Teores reduzidos de Ácido Úrico (abaixo de 2mg/dL) são encontrados na xantínúria após administração de alopurinol.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Foram realizados 40 testes em amostras cujo teor de Ácido Úrico situava-se no intervalo de 2,3 a 13,2mg/dL. Esses ensaios foram feitos em paralelo com uma metodologia de referência (Uricase-Trinder). A comparação do kit de Urato 160 Doles (Y) com a metodologia mencionada (X) deu origem à seguinte equação de regressão linear: $Y = 1,196X - 1,216$, sendo o coeficiente de correlação 0,99.

Testes mostram uma recuperação média de 98,5 ± 2,9%. O erro da média foi de 1,86%.

Repetitividade: foram realizadas 20 dosagens sucessivas, com 3 amostras, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração (mg/dL)	2,10	6,52	10,34
Desvio padrão	0,06	0,12	0,15
Coefficiente de variação (%)	2,76	1,91	1,47

Reprodutibilidade: foram realizadas 20 dosagens, durante 20 dias consecutivos, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração (mg/dL)	2,42	7,01	11,00
Desvio padrão	0,07	0,14	0,21
Coefficiente de variação (%)	3,05	1,98	1,87



Especificidade: a presente metodologia é específica para determinação de Ácido Úrico, não havendo, dessa maneira, reações inespecíficas com outras substâncias.

Sensibilidade: a absorvância encontrada, de 0,034, corresponde a 1mg/dL de concentração de Ácido Úrico, quando realizados os testes em espectrofotômetro, a 520nm. A sensibilidade do sistema está diretamente relacionada com a do aparelho utilizado pelo laboratório.

Diluição da matriz: estudos sucessivos de diluição da matriz mostraram que não há interferência na sensibilidade diagnóstica da presente metodologia de Uricase-Trinder modificado.

Substâncias interferentes: soros hemolizados podem causar resultados falsamente elevados. Não utilizar essas amostras para determinação de Ácido Úrico. Soros lipêmicos não interferem na presente metodologia, pois o surfactante diminui sua turbidez, facilitando a solubilização das lipoproteínas. Certas drogas alteram os valores de Ácido Úrico (ver em limitações do sistema). Para controle de interferência dessa natureza recomenda-se que o paciente seja questionado quanto ao uso de medicamentos.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- Barham, D., Trinder, P.: *Analyst* 97, 142, 1972.
- Fossati, P., Prencipe, L., Berti, G.: *Clin. Chem.* 26.227. 1980
- Pagana K.D.: *Mosby's Diagnostic and Laboratory Test Reference*, 754 -758, 1992.
- Bishop M.L; duben-Engelkirk J.L; Fody E.P.: *Clinical Chemistry*, 444 - 446, 1992.
- Tibúrcio, H.M.: *Controle Interno da Qualidade Analítica*, 1ªed. março/1995.
- Doles: dados de arquivo

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

As garantias do fabricante ao consumidor seguem estritamente as relacionadas na Lei nº 8.078, de 11 de setembro de 1.990 - **Código de Defesa do Consumidor**.

Todos os reagentes que compõem este sistema para diagnóstico são garantidos na sua performance, reprodutibilidade e qualidade até a data de vencimento dos mesmos, se obedecidas as condições abaixo:

- 1.O usuário do sistema seguir, rigorosamente, o procedimento técnico.
- 2.As condições de armazenamento deverão estar de acordo com o estabelecido nas instruções de uso.
- 3.Os materiais necessários e não fornecidos deverão estar em boas condições técnicas.

Todos os produtos que apresentarem problemas técnicos comprovados serão substituídos, sem ônus para o consumidor.

Doles Reagentes e Equipamentos para Laboratórios Ltda.
CNPJ: 01.085.513/0001-05
Rodovia BR 153, Km 1273, Lt.07, Chácara Retiro
Caixa Postal 1051
CEP: 74001-970 Goiânia - GO - Brasil
e-mail: doles@doles.com.br

M.S.: nº 10231810019

Revisão: 16 (08/2009)

NBR ISO 9001
Sistema da Qualidade
certificado desde 1999

