

URATO ENZIMÁTICO LÍQUIDO

BIOQUÍMICA CLÍNICA

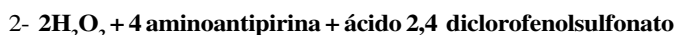
FINALIDADE

Sistema enzimático para dosagem do ácido úrico no soro, plasma ou urina.

Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO

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



peroxidase



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.

METODOLOGIA

Uricase

REAGENTES

Reagente de Cor : Tampão de fosfatos 100mmol/L, pH 7,8, contendo Diclorofenolsulfonato 4mmol/L, 4-aminoantipirina 0,5mmol/L Uricase \geq 120U, Ascorbato Oxidase \geq 4.980U, Peroxidase \geq 1.080U.

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

APRESENTAÇÃO

Reagente de Cor 2 x 80mL
Solução Padrão 7mg/dL 1 x 3mL

NÚMERO DE TESTES

Manual 80 testes (50µL amostra/2mL Reag. de cor)
160 testes (25µL amostra/1mL Reag. de cor)
Automático (*) 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 510nm ou filtro verde.
- Tubos de Ensaio.
- Pipetas graduadas.
- Pipeta semiautomática de 50µL/25µL.
- Ponteiras descartáveis.
- Banho maria (37°C).
- Cronômetro.

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Reagente de Cor: armazenar à temperatura de 2-8°C, até a data de vencimento indicada no rótulo do frasco. Ao longo do tempo, a solução pode adquirir tonalidade rósea escura, não interferindo nos resultados.

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 o contato com a 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 os critérios de biossegurança estabelecidos pelo Laboratório, de acordo com as normas locais, estaduais ou federais.

O Reagente de Cor deve ser manipulado com cuidado, evitando a introdução de pipetas no mesmo. Pipetas contaminadas com detergentes podem levar à deterioração do mesmo.

Observar ainda a simbologia constante nos rótulos do produto:



Irritante

AMOSTRA

Soro, plasma ou urina. A amostra permanece estável 7 dias, entre 2-8°C, ou 6 meses, a 20°C negativos.

Evitar amostras com traços de hemólise.

A amostra de urina (24hs) deverá ser colhida com conservantes (sugere-se NaHCO₃ - 5gramas).

Todas as amostras biológicas deverão ser consideradas como potencialmente infectantes.

PROCEDIMENTO TÉCNICO

O Reagente de cor está pronto para uso, e deve estar a temperatura ambiente no momento do uso.

Urina

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

Identificar 03 tubos com **B(branco)**, **P(padrão)** e **T(teste)**.

Proceder como segue:

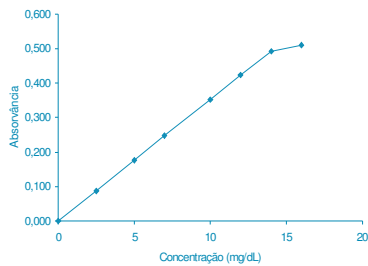
	Branco	Padrão	Teste
Reagente de Cor	2mL	2mL	2mL
Padrão	-	50µL	-
Amostra	-	-	50µL

Misturar por agitação e incubar 5 minutos em banho maria a 37°C ou 10 minutos à temperatura ambiente (20 - 30°C). Proceder à leitura das absorvâncias em espectrofotômetro ou fotocolorímetro em **510nm** (510 - 530nm), zerando o aparelho com o branco.

A cor desenvolvida é estável durante 30 minutos à temperatura ambiente (20-30°C).



CURVA DE CALIBRAÇÃO



Padrão	Absorvância	Conc. (mg/dL)
1	0	0
2	0,088	2,5
3	0,176	5
4	0,274	7
5	0,352	10
6	0,423	12
7	0,494	14
8	0,510	16

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

- A curva de calibração é constituída pela relação gráfica dos valores das absorvâncias com os valores das concentrações, de um conjunto de soluções padrão. São necessários três passos: (1) preparação das soluções padrão; (2) medições dos valores de absorvância das soluções padrões de acordo com o especificado no procedimento técnico da presente instrução de uso e (3) preparação de um gráfico, usando papel especial, em que se relacionam absorvância com concentração. A figura acima mostra um exemplo de curva de calibração relacionando absorvância com concentração. Sendo a absorvância relacionada linearmente com a concentração, o gráfico deverá ser feito em papel linear.
- 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. As curvas de calibração são utilizadas para substituir os cálculos matemáticos na determinação das concentrações das amostras. A leitura da amostra é localizada no gráfico apropriado e a concentração correspondente é determinada a partir da curva, contudo tal procedimento é válido se a leitura da amostra estiver no intervalo da linearidade da reação.
- A reação é linear até 14mg/dL (ver curva acima). Para valores acima, diluir a amostra com solução fisiológica, realizando nova dosagem. Multiplicar o valor encontrado pelo fator de diluição.**
- O kit de Urato Líquido Doles, possui padrão no intervalo de linearidade da metodologia. O Laboratório deve realizar o ensaio com o padrão que acompanha o kit e calcular seu fator de calibração (F) de acordo com o exemplo abaixo.**
- O fator deve ser refeito periodicamente e a cada lote do produto.**
- Os padrões utilizados no preparo da curva de calibração foram ajustados tendo como referência: Human Serum 909b (NIST).**

CÁLCULOS

• SORO/PLASMA

$$\text{Ácido úrico (mg/dL)} = \frac{\text{Absorvância Teste}}{\text{Absorvância Padrão}} \times 7$$

Exemplo:

Leituras:

Padrão : 0,247

Teste : 0,150

$$\text{Ácido úrico (mg/dL)} = \frac{0,150}{0,247} \times 7 = 4,3$$

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

$$\text{Fator} = \frac{7}{\text{Absorvância}}$$

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

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

Exemplo:

Leituras:

Padrão : 0,247 / 0,246 / 0,245

$$\text{Média} = \frac{0,247 + 0,246 + 0,245}{3}$$

$$\text{Fator} = \frac{7}{0,245}$$

Fator = 28,57

Absorvância Teste x Fator(F) x 10

Leitura do teste = 0,150

Ácido úrico (mg/dL) = 0,150 x 28,57 = 4,3

• URINA

Volume urinário de 24 horas = 1.400mL

Ácido úrico (mg/dL) = = 0,245

Exemplo:

Leitura:

Absorvância teste = 0,160

Fator = 28,57

Ácido úrico (mg/dL) = 0,160 x 28,57 x 10 = 45,7

Cálculo para excreção de ácido úrico em urina de 24h.

$$\text{Ácido úrico / urina de 24h} = \frac{\text{Ácido úrico mg/dL} \times \text{vol. urina 24h (mL)}}{100}$$

$$\text{Ácido úrico / urina de 24h} = \frac{45,7}{100} \times 1400 = 639,9\text{mg/urina de 24hs}$$

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 instrução de uso. Qualquer alteração no procedimento técnico, 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 níveis séricos de Ácido Úrico.
- Drogas como: alopurinol, corticoesteroides, estrógenos, infusão de glicose e manitol, podem diminuir os valores séricos de Ácido Úrico.

CONTROLE DA QUALIDADE DO SISTEMA

- 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.
- A água utilizada na limpeza do material deve ser de boa qualidade.
- Colunas deionizadoras saturadas liberam íons diversos, amins e agentes oxidantes que deterioram os reagentes.
- As pipetagens devem ser precisas.
- 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.
- 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, na população atendida, sua própria faixa de valores de referência. 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 Nucléico e problemas renais.

A gota primária é uma doença encontrada principalmente em homens, sendo feito o diagnóstico usualmente entre os 30 e 50 anos. Nesses casos, os teores de Ácido Úrico se encontram acima de 10mg/dL, favorecendo a formação de cálculos renais. Outras de hiperuricemia são as enfermidades que aumentam a renovação de Ácido Nucléico como leucemia, linfoma, mieloma múltiplo ou policitemia.

A hiperuricemia é comum na toxemia da gravidez.

Níveis elevados podem ser achados 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 DO DESEMPENHO

Foram realizados 40 testes em amostras cujo teor de Ácido Úrico situava-se no intervalo de 2,34 a 11,43mg/dL. Estes ensaios foram realizados em paralelo com uma metodologia de referência. A comparação do kit de Urato Líquido Doles (Y) com um produto de referência (X), deu origem à seguinte equação de regressão linear: $Y = 0,98X$, sendo o coeficiente de correlação 0,99.

Testes mostram uma recuperação média entre 99 e 100,7%

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

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração (mg/dL)	2,87	6,23	10,50
Desvio padrão	0,06	0,13	0,18
Coefficiente de variação (%)	2,09	2,09	1,71

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

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Concentração (mg/dL)	2,50	6,87	10,94
Desvio padrão	0,07	0,13	0,21
Coefficiente de variação (%)	2,80	1,89	1,92

Especificidade: a presente metodologia é específica para determinação de ácido úrico. Não há reações inespecíficas com outras substâncias.

Sensibilidade: a absorvância de 0,035 corresponde a 1mg/dL de concentração de ácido úrico, quando a reação corada é quantificada em espectrofotômetro com banda espectral inferior a 7nm, passagem de luz de 10mm e comprimento de onda de 510nm. A sensibilidade do sistema está diretamente relacionada a sensibilidade 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.

Substâncias interferentes: Ácido Ascórbico em concentrações superiores a 5mmol/L aumentam, artificialmente, os níveis séricos de Ácido Úrico. A presença de surfactante na formulação impede que soros lipêmicos (triglicérides +/- 1000mg/dL) produzam resultados artificialmente elevados.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- Barham, D., Trinder, P., Analyst 97, 142, 1972.
- Fossati, P., Prencipe, L., Berti, G., Clin. Chem. 26.227.
- 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 na instrução 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

CEP: 74001-970 Goiânia - GO - Brasil

Caixa Postal 1051

e-mail: doles@doles.com.br

M.S.: nº 10231810083

Revisão: 14 (08/2009)

NBR ISO 9001

Sistema da Qualidade certificado desde 1999

