ÁCIDO ÚRICO

MÉTODO:
Enzimático Colorimétrico – UOD-PAP (Trinder).

FINALIDADE:
Kit de reagentes para a determinação quantitativa da ácido úrico no soro, plasma heparinizado ou urina em sistemas fotométricos.
Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

SIGNIFICADO CLÍNICO:
O ácido úrico (AU) é um produto do catabolismo de purinas e aminoácidos. É produzido no fígado e excretado na urina. Os níveis de urato no sangue são afetados tanto pela produção de AU quanto pela eficiência da depuração renal, o que o torna um bom indicador da função renal. Elevados níveis de AU no sangue podem ser devidos a gota, leucemia, diabetes mellitus, hipertireoidismo ou hiperparatireoidismo, falência renal ou cálculo renal.

FUNDAMENTO:
O método Enzimático Colorimétrico UOD-PAP (Trinder) determina o ácido úrico pela reação com a uricase. O peróxido reage, na presença da peroxidase (POD), com o ácido 3,5-dicloro-diidroxibenzenosulfônico (DHBS) e 4-aminoantipirina (4-AAP) para formar o corante quinoneimina, na reação de Trinder.

$$Ácido\ úrico + H_2O + 2H^+ \xrightarrow{Uricase} Alantoína + CO_2 + H_2O_2$$

$$DHBS + O_2 + 4\text{-}AAP + 2H_2O_2 \xrightarrow{POD} Quinoneimina + 4H_2O$$

IDENTIFICAÇÃO E ARMAZENAMENTO:
Conservar entre 2 e 8 °C.

COMPOSIÇÃO:

R1:		
Tampão Fosfato, pH 7,4	≥50	mmol/L
DHBS	≥7,0	mmol/L
Surfactantes e conservantes	<5,0	g/L
R2:		
Uricase	≥6,0	kU/L
Peroxidase	≥5,0	kU/L
4-Aminoantipirina	≥1,0	mmol/L
Surfactantes e conservantes	<5,0	g/L

MODO DE USO:
Os reagentes estão prontos para uso e não dependem de preparo.

Opcionalmente, os reagentes podem ser utilizados como Reagente de Trabalho. Sendo que, nesse caso, a proporção da mistura é de 4 partes de Reagente 1 com 1 parte do Reagente 2. Homogeneizar antes do uso.

ESTABILIDADE:
R1 e R2 são estáveis até a data de validade impressa no rótulo se mantidos fechados em temperatura entre 2 e 8 °C.
O Reagente de Trabalho é estável sob refrigeração (2-8°C) por 10 dias a contar da data de sua preparação.
Não congelar!

Estabilidade *on board*
Após a abertura e instalação no analisador, os reagentes permanecem estáveis **por até 39 dias**, desde que mantidos no compartimento refrigerado dos analisadores Vyttra – BM SERIES.

Deve-se substituir o reagente imediatamente ao identificar sinais de instabilidade ou deterioração, tais como:
- Degradação Física: Presença de turbidez, precipitação ou alteração na coloração original da solução e sinais visíveis de vazamento.
- Inconsistência Analítica: Resultados de controles fora dos limites de tolerância, critérios de aceitação estabelecidos, ou falhas consecutivas no processo de calibração do sistema analítico.

Frequência de Calibração
A calibração desse ensaio deve ser realizada quando inserido no sistema. Uma nova calibração deverá ser executada quando houver:
- Troca de Lote: Instalação de um novo lote de reagentes
- Intervenção Técnica: Após manutenções preventivas ou corretivas.
- Inconsistência Analítica: Resultados de controles fora dos critérios de aceitação estabelecidos.

A calibração do ensaio é válida **por até 30 dias**, podendo ser antecipada caso um dos cenários acima ocorra.

Nota: A periodicidade da calibração pode ser redefinida pelo laboratório, desde que fundamentada em evidências documentadas que comprovem a manutenção do desempenho analítico dentro dos limites especificados.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA:
O fabricante garante a qualidade do produto, se este for armazenado como descrito acima e em sua embalagem original.

PRECAUÇÕES:
- A manutenção das características de desempenho e da segurança do produto é também de responsabilidade do laboratório usuário, que deve assegurar o cumprimento das Boas Práticas de Laboratório, a utilização conforme esta Instrução de Uso, o armazenamento, transporte e manuseio adequados, a calibração, verificação e manutenção dos equipamentos, a capacitação dos profissionais envolvidos, bem como a utilização de níveis de controle de qualidade apropriados ao ensaio, conforme os requisitos aplicáveis
- Os reagentes não necessitam ser tratados como amostras contaminantes.
- Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação do reagente.
- Não há como assegurar que amostras biológicas e soros controles estão totalmente isentos de agentes infecciosos, portanto, é recomendado manuseá-los de acordo com as instruções de biossegurança. Para as informações de segurança do produto, consultar a Ficha de Segurança (FDS).
- Para o descarte seguro dos reagentes e materiais biológicos, sugerimos utilizar as regulamentações normativas locais, estaduais ou federais para a preservação ambiental.
- Os reagentes contêm azida sódica como conservante. Evitar contato com a pele e mucosas. Em caso de contato com os olhos, lavar com bastante água por vários minutos.

AMOSTRA BIOLÓGICA:
Soro ou plasma (heparina) livres de hemólise e urina.

ESTABILIDADE DAS AMOSTRAS:
A estabilidade do ácido úrico na amostra é de até 5 dias entre 2 e 8 °C e 6 meses a -20 °C.
Ao se analisar urina, recomenda-se não utilizar conservantes e realizar o ensaio o menor tempo possível após a coleta.
Descongelar as amostras apenas uma vez e descartar amostras contaminadas!

INTERFERENTES:
Nenhuma das substâncias abaixo apresentou interferência até as seguintes concentrações:

Bilirrubina	40 mg/dL
Hemoglobina	500 mg/dL
Triglicérides	2000 mg/dL

Resultados falsamente diminuídos podem ocorrer em amostras coletadas após administração de N-acetilcisteína (NAC) e/ou metamizol (dipirona), devido à interferência em ensaios baseados na reação de Trinder. Em pacientes expostos a altas concentrações de acetaminofeno (paracetamol) e/ou seus metabólitos e/ou em tratamento com NAC, podem ocorrer interferências analíticas em alguns sistemas. O impacto pode variar conforme o método e o analisador. Em caso de dúvida, recomenda-se repetir o teste conforme avaliação clínica; a suspensão de medicação deve ocorrer apenas sob orientação médica.[11]

A presença de ascorbato pode causar interferência negativa em métodos com peroxidase (Trinder).[12]

A uricase é altamente específica para urato, mas pode ser inibida por análogos/compostos relacionados, em condições particulares.[13]

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS:
- Fotômetro UV/VIS
- Pipetas
- Cronômetro
- Tubos de ensaio
- Solução NaCl 9,0 g/L
- Banho-maria a 37 °C
- Controles e calibrador

MÉTODO DE ANÁLISE:
A-Preparo:
Termostatizar o reagente de uso na temperatura desejada. A temperatura deve permanecer constante (±0,5 °C) durante a execução do teste.

Preparo da amostra de urina:
1- Medir o volume urinário em mL (para urina 24 horas)
2- Homogeneizar a urina e separar 10 mL da amostra
3- Ajustar o pH da amostra para entre 7,0 e 9,0 com NaOH 1N
4- Aquecer por 10 min a 56 °C, para dissolver os cristais de ácido úrico
5- Diluir a urina na proporção 1:10 (100 µL de urina + 900 µL de água deionizada)
6- Multiplicar o resultado por 10 (fator de diluição)

B-Leitura em espectrofotômetro:
Comprimento de onda (λ): 546 nm (520 a 560 nm)
Temperatura: 37 ± 0,5 °C
Tipo de reação: Ponto final crescente
Calibração: Linear de 2 pontos, contra reagente branco

C-Esquema de pipetagem:
1- Em três tubos ou cubetas marcados como Branco, Padrão e Amostra, proceder conforme o protocolo a seguir:

Pipetar	**Tubos ou cubetas**		
	Branco	**Padrão**	**Amostra**
R1	1000 µL	1000 µL	1000 µL
Água	20 µL	---	---
Calibrador/Padrão	---	20 µL	---
Amostra	---	---	20 µL
Homogeneizar bem e incubar por 1 minuto, então adicione:			
R2	250 µL	250 µL	250 µL

2- Homogeneizar bem e incubar por 5 minutos a 37 °C
3- Medir a absorbância do Calibrador/Padrão e da Amostra contra o Branco (ΔAbs) a 546 nm (520 a 560 nm). A cor final da reação é estável por 15 minutos

D-Cálculo com Calibrador/Padrão:
ΔAbs = ΔAbs1 – ΔAbs2

$$\text{Ácido Úrico (mg/dL)} = \frac{\Delta Abs_{\ Amostra}}{\Delta Abs_{\ Padrão}} \times \text{Concentração do Calibrador/Padrão}$$

Exemplo:
$\Delta Abs_{Amostra}$ = 0,564
$\Delta Abs_{Padrão}$ = 0,932
Concentração do Calibrador/Padrão: 11 mg/dL

ÁCIDO ÚRICO

$$\text{Ácido Úrico (mg/dL)} = \frac{0{,}564}{0{,}932} \times 11 \text{ mg/dL}$$

Ácido Úrico (mg/dL) = **6,66 mg/dL**

E-Cálculo com fator:
Pela Lei de Lambert-Beer, o fator de calibração pode ser aplicado:

$$\text{Fator de calibração} = \frac{\text{Concentração do Padrão}}{\text{Absorbância do Padrão}}$$

$$\text{Ácido Úrico (mg/dL)} = \Delta Abs_{\text{Amostra}} \times \text{Fator de calibração}$$

Exemplo:

$$\text{Fator de calibração} = \frac{11 \text{ mg/dL}}{0{,}932}$$

Fator de calibração = 11,8
Ácido Úrico (mg/dL) = 0,564 × 11,8
Ácido Úrico (mg/dL) = **6,66 mg/dL**

F-Cálculo para urina de 24 horas:

$$\text{Ácido Úrico (mg/24 h)} = \frac{\text{mg/dL}}{100} \times \text{Volume Urinário (em mL)}$$

VALORES DE REFERÊNCIA:

Soro e plasma		
Homem	3,4 – 7,0 mg/dL	(0,202 – 0,416 mmol/L)
Mulher	2,4 – 5,7 mg/dL	(0,142 – 0,339 mmol/L)
Urina		
Manhã	37 – 92 mg/dL	(2,2 – 5,48 mmol/L)
24 h	200 – 1000 mg/24h	(1,2 – 5,9 mmol/L/24h)

Esses valores são fornecidos somente como orientação, cada laboratório deve estabelecer sua faixa de referência.
Conversão unitária: 1 mg/dL × 0,0595 = mmol/L

AUTOMAÇÃO:
Adaptação especial para analisadores está disponível e será enviada ao consumidor quando solicitada.

LINEARIDADE:
Para amostra de soro/plasma: A reação é linear até a concentração de 30 mg/dL (1,785 mmol/L). Se os valores excederem esse intervalo, as amostras devem ser diluídas com solução NaCl 9,0 g/L e multiplicadas pelo fator de diluição aplicado.

Para amostras de urina: A reação é linear até a concentração de 300 mg/dL (17844 mmol/L). Se os valores excederem esse intervalo, as amostras devem ser diluídas com solução NaCl 9,0 g/L e multiplicadas pelo fator de diluição aplicado.

SENSIBILIDADE:
Para amostra de soro/plasma: O limite inferior de detecção é 0,2 mg/dL (0,012 mmol/L).

Para amostras de urina: O limite inferior de detecção é 0,7 mg/dL (41,64 mmol/L).

PRECISÃO:
Repetibilidade:
A repetibilidade foi calculada a partir de 25 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

INTRAENSAIO *n = 25* **Amostras de Soro/Plasma**	**Média (mg/dL)**	**Desvio padrão (mg/dL)**	**CV%**
Amostra 1	1,64	0,04	2,72
Amostra 2	7,83	0,16	2,11
Amostra 3	22,4	0,92	4,18

INTRAENSAIO *n = 25* **Amostras de Urina**	**Média (mg/dL)**	**Desvio padrão (mg/dL)**	**CV%**
Amostra 1	69,50	1,24	1,78
Amostra 2	217,56	1,92	0,88
Amostra 3	367,15	2,81	0,77

Reprodutibilidade:
A reprodutibilidade foi calculada a partir de 25 determinações sucessivas durante 5 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

INTERENSAIO *n = 25* **Amostras de Soro/Plasma**	**Média (mg/dL)**	**Desvio padrão (mg/dL)**	**CV%**
Amostra 1	1,49	0,07	4,60
Amostra 2	7,61	0,28	3,72
Amostra 3	21,6	1,03	4,81

INTRAENSAIO *n = 25* **Amostras de Urina**	**Média (mg/dL)**	**Desvio padrão (mg/dL)**	**CV%**
Amostra 1	69,83	1,58	2,26
Amostra 2	217,39	2,87	1,32
Amostra 3	370,39	2,50	0,68

COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS:
Para amostras de soro/plasma: Foram realizados testes com 60 amostras comparando-se o kit ÁCIDO ÚRICO (y) a um teste comercialmente disponível (x). A análise de regressão linear de Passing-Bablok resultou em: $y = 0{,}953x + 0{,}134$ e coeficiente de correlação (r-Pearson) = 0,995

Para amostras de urina: Foram realizados testes com 50 amostras comparando-se o kit ÁCIDO ÚRICO (y) a um teste comercialmente disponível (x). A análise de regressão linear de Passing-Bablok resultou em y = 1,001x + 0,1122 e coeficiente de correlação (r-Pearson) = 0,993.

CALIBRAÇÃO E CONTROLE DE QUALIDADE:
Para Calibração e Controle Interno de Qualidade Laboratorial recomenda-se o uso do calibrador e controles abaixo:
VYTCAL Multicalibrador Universal Bioquímica Clínica
VYTCON BQ I
VYTCON BQ II

APRESENTAÇÕES:

	REFERÊNCIA	**VOLUME**	**CONTEÚDO**	
			R1	**R2**
ÁCIDO ÚRICO (Universal)	VYT010307184EN	100 mL	4 x 20 mL	2 x 10 mL
ÁCIDO ÚRICO (BM SERIES I)	VYT010308775EN	200 mL	4 x 40 mL	4 x 10 mL
ÁCIDO ÚRICO (BM SERIES III)	VYT010307421EN	375 mL	5 x 60 mL	5 x 15 mL

ANVISA: 81692610099

BIBLIOGRAFIA:

1. Kaplan, LA, Pesce, AJ. Methods in Clinical Chemistry, St. Louis: The C.V. Mosby Co., 1987.
2. Ricos C et al. Scand J Clin Lab Invest. 59:491-500, 1999.
3. Statland B.E. Clinical Decision Levels for Laboratory Tests, Second Edition [Oradell NJ;Medical Economics Books, 1987.
4. Frase, CG. Biological Variation: from principles to pratice; AACC Press, 2001.
5. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Clin Chem. 24:863-8690, 1986.
6. Young DS. Ann Clin Biochem. 34(6):579-581, 1997
7. Krieg M et al. J Clin Chem Clin Biochem. 24:863, 1986.
8. Bergmeyer, HU. Methods of Enzimatic Analisis, vol. 9, VCH Publishers, 1985.
9. Clancy D et al. AAPS PharmSciTech. 18, 1158–1176, 2017.
10. Wu AHB. Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests., 4th Ed. Missouri: Elsevier (Saunders), 2006
11. Genzen, J. R.; Hunsaker, J. J.; Nelson, L. S.; Faine, B. A.; Krasowski, M. D. *N-Acetylcysteine Interference Of Trinder-Based Assays*. Clinical Biochemistry, V. 49, N. 1–2, P. 100-104, 2016. Doi: 10.1016/J.Clinbiochem.2015.10.005.
12. Martinello, F.; Da Silva, E. L. *Mechanism Of Ascorbic Acid Interference In Biochemical Tests That Use Peroxide And Peroxidase To Generate Chromophore*. Clínica Chimica Acta, V. 373, N. 1–2, P. 108-116, 2006. Doi: 10.1016/J.Cca.2006.05.012.
13. Keilin, D. *The Action Of Uricase On Uric Acid And Other Purines*. Proceedings Of The Royal Society Of London. Series B, Biological Sciences, V. 119, N. 813, P. 114-140, 1936. Doi: 10.1098/Rspb.1936.0002.

SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CLIENTE – SAC:
Dúvidas técnicas no procedimento ou manuseio deste kit, entrar em contato com:

ASSESSORIA CIENTÍFICA – VYTTRA DIAGNÓSTICOS
Tel. 0800 703 4043

FABRICANTE:
Vyttra Diagnósticos S.A.
Avenida Radamés Lo Sardo, 222 - Bairro Uberaba - Bragança Paulista - São Paulo
CEP: 12908-829 CNPJ: 00.904.728/0012-09
Responsável Técnica: Patrícia Yamaguti - CRF/SP: 32622

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS DO PRODUTO:

	Data de Fabricação
	Data de Validade
	Limite de Temperatura
REF	Código do Produto
	Consultar Instruções de Uso
LOT	Número do Lote
IVD	Produto para Diagnóstico In Vitro