

Bioquímica Médica II

Práctica: DETERMINACIÓN DE ÁCIDO ÚRICO (basado en el sistema BioSystems)

GENERALIDADES

En el hombre, el ácido úrico es el principal producto del catabolismo de las bases púricas, las cuales se obtienen principalmente de la síntesis *in vivo*, tanto de novo como reciclaje, y una mínima parte de la dieta. En otras especies el ácido úrico también es producto de degradación de aminoácidos.

Concentraciones elevadas de ácido úrico en suero u orina pueden ser atribuibles a una sobreproducción de urato (síntesis incrementada de purinas), a una disminución en el reciclaje o a una eliminación defectuosa de urato.

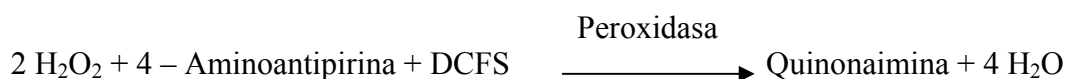
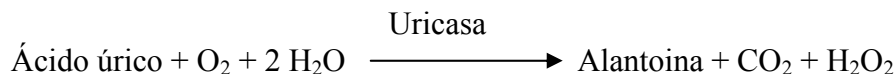
Las concentraciones sanguíneas de ácido úrico se encuentran muy cercanas al umbral de solubilidad, es por esto que un aumento ligero de la concentración puede hacer que el ácido úrico se precipite. La forma ácida (ácido úrico) es menos soluble que la forma básica (urato). La hiperuricemia puede llevar a la precipitación de ácido úrico en las articulaciones, en aproximadamente el 10 % de estas personas puede desencadenarse, además, un proceso inflamatorio conocido como gota.

La hiperuricemia se asocia generalmente con la gota, disminución de la función renal, deshidratación, alteraciones mieloproliferativas, inanición, hipertensión inducida por el embarazo, síndrome de Lesch-Nyhan, leucemia, psoriasis, sarcoidosis, uso prolongado de diuréticos y otros fármacos.

El diagnóstico clínico no debe realizarse teniendo en cuenta el resultado de un único ensayo, sino que debe integrar los datos clínicos y de laboratorio.

FUNDAMENTO DEL MÉTODO (URICASA/PEROXIDASA)

El ácido úrico presente en la muestra origina, según las reacciones acopladas descritas a continuación, un complejo coloreado que se cuantifica por espectrofotometría.



COMPOSICIÓN

A. Reactivo: Fosfatos 100 mmol/L, detergente 1,5 g/L, diclorofenolsulfonato 4 mmol/L, uricasa > 0,12 U/mL, ascorbato oxidasa > 5 U/mL, peroxidasa > 1 U/mL, 4-aminoantipirina 0,5 mmol/L, pH 7,8.

S. Patrón de Ácido Úrico: Acido úrico 6 mg/dL (357 µmol/L). Patrón primario acuoso.

MUESTRAS

Suero, plasma u orina recogidos mediante procedimientos estándar. Diluir la orina 1/10 con agua destilada antes del ensayo.

El ácido úrico en suero o plasma es estable 7 días a 2-8°C. Los anticoagulantes como la heparina, EDTA, oxalato o fluoruro no interfieren.

El ácido úrico en orina es estable 4 días a temperatura ambiente si se ajusta el pH a > 8 con NaOH. No refrigerar.

PROCEDIMIENTO

1. Colocar el reactivo a temperatura ambiente.

2. Pipetear en tubos de ensayo: (Nota 1)

	Blanco	Patrón	Muestra
Agua destilada	25 µL		
Patrón Ácido Úrico (S)		25 µL	
Muestra			25 µL
Reactivo (A)	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

3. Agitar bien e incubar los tubos durante 10 minutos a temperatura ambiente (16-25°C) o durante 5 minutos a 37°C.

4. Leer la absorbancia (A) del Patrón y de la Muestra a 520 nm frente al Blanco. El color es estable durante al menos 30 minutos.

CÁLCULOS

La concentración de ácido úrico en la muestra se calcula a partir de la siguiente fórmula general:

$$\frac{A_{\text{muestra}}}{A_{\text{patrón}}} \times C_{\text{patrón}} \times \text{Factor de dilución muestra} = C_{\text{muestra}}$$

Si se utiliza para calibrar el Patrón de Àcido Úrico suministrado (Nota 2):

	Suero o plasma	Orina
$\frac{A_{\text{muestra}}}{A_{\text{patrón}}}$	$x 6 = \text{mg/dL ácido úrico}$	$x 60 = \text{mg/dL ácido úrico}$
	$x 357 = \mu\text{mol/L ácido úrico}$	$x 3570 = \mu\text{mol/L ácido úrico}$

VALORES DE REFERENCIA

Suero y plasma:

Hombres: 3,5-7,2 mg/dL = 210-420 $\mu\text{mol/L}$

Mujeres: 2,6-6,0 mg/dL = 150-350 $\mu\text{mol/L}$

Orina:

250-750 mg/24 horas = 1,5-4,5 mmol/24 horas

Estos valores se dan únicamente a título orientativo; es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios intervalos de referencia.

CARACTERÍSTICAS METROLÓGICAS

– Límite de detección: 0,02 mg/dL = 1,19 $\mu\text{mol/L}$

– Límite de linealidad: 25 mg/dL = 1487 $\mu\text{mol/L}$. Cuando se obtengan valores superiores, diluir la muestra 1/5 con agua destilada y repetir la medición.

– Interferencias: La hemoglobina (2 g/L) y la bilirrubina (2,5 mg/dL) y la lipemia interfieren. Otros medicamentos y sustancias pueden interferir.