

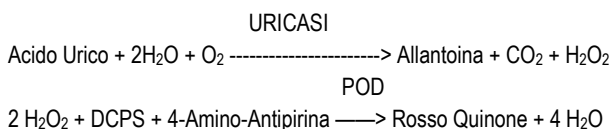
Determinazione quantitativa dell'Acido Urico nel siero, plasma, urine. Metodo enzimatico colorimetrico URICASE-PAP in end point

REF CC1322 R1: 4x60 mL + R2: 1x3 mL (standard)

REF CC1320 R1: 4x100mL+ R2: 1x3 mL (standard)

PRINCIPIO DEL METODO

L'Uricasi ossida l'Acido Urico ad Allantoina con formazione di Perossido di Idrogeno che, in presenza di Perossidasi (POD), reagisce con un cromogeno (DHBS) e con 4-Amino-Antipirina, formando un composto colorato in rosso la cui intensità, misurata a 546 nm, è proporzionale alla concentrazione dell'Acido Urico nel campione in esame.



SIGNIFICATO CLINICO

L'Acido Urico è il più importante prodotto del catabolismo delle purine (adenosina e guanosina). Quest'ultime sono sintetizzate in via endogena dalla rottura degli acidi nucleici ma provengono anche dalla dieta di carne. Quando l'Acido Urico incrementa oltre i 7 mg/dL, si verifica una uricemia con deposito degli urati nei tessuti molli.

I livelli di Acido Urico possono essere elevati a causa di vari fattori.

La ridotta escrezione renale è sicuramente la causa più comune di iperuricemia. Essa può essere ereditaria o svilupparsi in pazienti in terapia con diuretici o con patologie che riducono la velocità di filtrazione glomerulare. L'etanolo induce un aumento del catabolismo delle purine nel fegato e della formazione di acido lattico, che blocca l'escrezione di acido urico dai tubuli renali. L'avvelenamento da piombo e la ciclosporina (abituale impiegata nei pazienti trapiantati) danneggiano irreversibilmente i tubuli renali, portando alla ritenzione dell'acido urico. L'aumento di produzione può derivare dall'elevato turnover nucleoproteico nelle malattie ematologiche (es. linfoma, leucemia e anemia emolitica) e da quelle situazioni in cui vi è un elevato indice di proliferazione e morte cellulare (es. psoriasi, chemioterapia citotossica e radioterapia). Questa situazione si può riscontrare anche come alterazione primaria ereditaria e nell'obesità (essendo la produzione di acido urico correlata con la superficie corporea). Un aumentato apporto purinico dipende dall'eccessiva assunzione di cibi ricchi di purine (es. fegato, rene, acciughe, asparagi, brodo, aringhe, sughi a base di carne e brodi, funghi, cozze, sardine, animelle ecc.). In molti casi, la causa dell'eccesso di acido urico rimane sconosciuta. L'uricemia alta può portare alla formazione dei cosiddetti "tofi gottosi" a livello delle articolazioni, fino a situazioni evidenti di gotta. Quest'ultima condizione è caratterizzata da un'infiammazione a livello delle articolazioni, secondaria alla precipitazione dell'acido urico sotto forma di cristalli aghiformi di urato monosodico.

Quando l'Acido Urico si accumula nelle urine senza potersi disciogliere, esso resta nelle vie urinarie. Qui può precipitare sotto forma di piccoli cristalli di forma appiattita o talvolta irregolare, che si possono aggregare a formare granelli o calcoli. Questi elementi possono causare un'uropatia ostruttiva.

Una diminuzione dell'uricemia può dipendere da un'alterata funzionalità renale, ma può risultare anche da un'epatite virale oppure semplicemente da una dieta povera di alimenti ricchi di purine (come le carni).

L'ipouricemia, si riscontra anche nella malattia di Wilson (difetto metabolico ereditario) e in alcune emopatie. Valori bassi possono essere associati ad alcuni tipi di patologie del fegato, alla sindrome di Fanconi o all'esposizione a sostanze tossiche. I valori dell'uricemia diminuiscono in corso di terapie con probenecid, sulfipirazione, allopurinolo, ACTH e cortisonici, dicumarolici, estrogeni e salicilati ad alte dosi.

COMPOSIZIONE REAGENTI

Reagente (R1)

Tampone Good, pH 7,8	100 mmol/L
Uricasi	≥ 0,5 KU/L
Perossidasi (POD)	≥ 0,5 KU/L
4-Amino-Antipirina	0,5 mmol/L
DCPS	2 mmol/L

Reagente (R2)

Standard (Acido Urico):	valore in etichetta
-------------------------	---------------------

PREPARAZIONE REAGENTI E STABILITA'

Reagenti liquidi e pronti all'uso, stabili fino alla data di scadenza riportata, se conservati come riportato in etichetta e si evitano contaminazione, evaporazioni ed esposizione prolungata alla luce diretta.

Non congelare i reagenti.

Scartare il reagente se appaiono segni di deterioramento come presenza di particelle e torbidità oppure mancato recupero dei valori di sieri di controllo certificati oppure l'Assorbanza del Bianco Reagente > 0,300 a 546 nm in cuvetta da 1 cm.

Dopo l'apertura dei flaconi, si consiglia di prelevare il volume necessario, di richiudere immediatamente i flaconi e di riportarli in frigo al fine di evitare contaminazione, degradazione da luce diretta ed evaporazione.

CAMPIONI

Siero, plasma da eparina o da EDTA, urina.

Evitare campioni emolisati o lipemici. Scartare campioni contaminati.

Diluire le urine 1:10 (1+9) con acqua distillata e moltiplicare il risultato per 10.

Stabilità:

Siero /Plasma: 7 giorni a 4 – 8 °C; 3 giorni a 15 – 25 °C; 3 mesi -20 °C

Urine: 4 giorni a 15-25 °C

PROCEDURA

Lunghezza d'onda:	546 nm (510-550)
Temperatura:	37° C (20-25° C)
Misura:	contro acqua distillata

Pipettare come segue

Reagente 1	1000 µL
Campione, Std. / Cal / H ₂ O	10 µL

Miscelare, incubare per 5 min a 37° (o per 10 minuti a 20-25° C). Leggere l'assorbanza (Abs) entro 30 min.

CALCOLO

Siero/Plasma

$$\text{Acido Urico} = \frac{\text{Abs Campione} - \text{Abs Bianco Reagente}}{\text{Abs Std/Cal} - \text{Abs Bianco Reagente}} \times \text{Conc. Std/Cal}$$

Urina

Calcolare come per il siero/plasma e moltiplicare il risultato per 10 (diluizione iniziale del campione).

Acido Urico (mg/24h) = Acido Urico (mg/dL) x Volume Urine 24h (dL)

Acido Urico (µmol/24h) = Acido Urico (µmol/L) x Volume Urine 24h (L)

Fattore Conversione: Acido Urico [mg/dL] x 59,48 = Acido Urico [µmol/L]

CALIBRAZIONE

I risultati dipendono dalla accuratezza della calibrazione, dal corretto settaggio del test sullo strumento, dal giusto rapporto volumetrico reagente/campione e dalla corretta temperatura di analisi.

In alternativa allo standard accluso alla confezione, è possibile utilizzare il Calibratore di **MTD Diagnostics**:

Chemistry Multicalibrator - REF CAL1010 (10 x 3 mL).

CONTROLLO QUALITA'

Sieri di controllo normali e patologici a concentrazione nota, devono essere analizzati regolarmente in ogni seduta analitica.

Utilizzare il materiale di controllo di qualità di MTD Diagnostics:

Chemistry Control N - REF CNN1010 10x5 mL (Livello 1)

Chemistry Control P - REF CNP1020 10x5 mL (Livello 2)

VALORI DI RIFERIMENTO

Siero/Plasma:

Donne Adulte 2.6 - 6.0 (155 - 357) mg/dL (µmol/L)

Uomini Adulti 3.5 - 7.2 (208 - 428) mg/dL (µmol/L)

Bambini	Femmine mg/dL (µmol/L)	Maschi mg/dL (µmol/L)
1 - 30 giorni	1.0 - 4.6 (59 - 271)	1.2 - 3.9 (71 - 230)
31 - 365 giorni	1.1 - 5.4 (65 - 319)	1.2 - 5.6 (71 - 330)
1 - 3 anni	1.8 - 5.0 (106 - 295)	2.1 - 5.6 (124 - 330)
4 - 6 anni	2.0 - 5.1 (118 - 301)	1.8 - 5.5 (106 - 325)
7 - 9 anni	1.8 - 5.5 (106 - 325)	1.8 - 5.4 (106 - 319)
10 - 12 anni	2.5 - 5.9 (148 - 348)	2.2 - 5.8 (130 - 342)
13 - 15 anni	2.2 - 6.4 (130 - 378)	3.1 - 7.0 (183 - 413)
16 - 18 anni	2.4 - 6.6 (142 - 389)	2.1 - 7.6 (124 - 448)

Urine Adulti

≤ 800 mg/24h (4.76 mmol/24h) con dieta normale

≤ 600 mg/24h (3.57 mmol/24h) con dieta povera di purine

Ogni laboratorio dovrebbe stabilire un range di valori attesi in base alla propria popolazione di pazienti e, se necessario, determinare il proprio intervallo di riferimento. A fini diagnostici, i risultati devono sempre essere valutati insieme alla storia medica del paziente, all'esame clinico e ad altri risultati.

PRESTAZIONI

PRECISIONE:

Livello basso: Campioni= 20; Media = 5,6; D.S. = 0,04; CV = 0,70%

Livello alto: Campioni= 20; Media = 9,14; D.S. = 0,04; CV = 0,41%

ACCURATEZZA (CORRELAZIONE): Una comparazione tra questo metodo (x) ed un metodo certificato del commercio (y) ha dato la seguente correlazione:

$$y = 0.936 x + 0.417 \quad r = 0.995$$

SENSIBILITA': 0,45 mg/dL

LINEARITA': 0,45 – 20 mg/dL

INTERFERENZE E SPECIFICITA'

Non sono state osservate interferenze con Emoglobina fino a 500 mg/dL, con Bilirubina fino a 20 mg/d, Trigliceridi fino a 1000 mg/dL.

NOTE

1. Il reagente può essere utilizzato con differenti strumenti. Ogni applicazione su strumenti dovrebbe essere validata per dimostrare che i risultati coincidano con le caratteristiche e prestazioni del metodo. Si raccomanda di controllare periodicamente lo strumento. Contattare il proprio fornitore per ogni problema relativo alla metodica applicativa.

2. La diagnosi clinica non dovrebbe essere effettuata sui risultati di un singolo test, ma dovrebbe essere integrata con dati clinici e di laboratorio.

PRECAUZIONI

La miscela contiene:

FENOLO 5 mmol/L – CAS 108-95-2 T R23/24/25 (H331 – H301 – H311) - C R34 (H314)

4-AMINOANTIPYRINE 0.3 mmol/L – CAS 83-07-8 Xn R22 (H302)

SODIO AZIDE 0,7 gr/Lt – CAS 26628-22-8 ; N.E.C. 247-852-1

H301 – Tossico se ingerito

H302 – Nocivo se ingerito

H311 – Tossico per contatto con la pelle.

H314 – Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari

H331 – Tossico se inalato

Il prodotto non contiene altre sostanze o miscele pericolose secondo la regolamentazione CE n° 1272/2008 (CLP) ovvero le loro concentrazioni sono tali da non essere considerate persistenti, bioaccumulanti o tossiche (PBT). Pertanto, esso non è soggetto alla etichettatura speciale prevista dalla suddetta regolamentazione. Il prodotto è etichettato secondo la direttiva per la marcatura CE (98/79/CE).

Sodio Azide inferiore a 0.1%.

Tuttavia, in osservanza alle normali norme di prudenza che ognuno deve osservare allorchè si maneggi qualunque sostanza chimica o reagente di laboratorio, in caso di contatto dei Reagenti con l'operatore, occorre applicare i seguenti interventi di primo soccorso:

S26 (P305 – P351 – P338): In caso di contatto con gli occhi, lavare immediatamente e abbondantemente con acqua e consultare il medico.

S28 (P302 – P352): In caso di contatto con la pelle, lavarsi immediatamente ed abbondantemente.

S36/37/39 (P280): Usare indumenti protettivi e guanti adatti e proteggersi gli occhi/la faccia.

S46 (P301 – P310): In caso d'ingestione consultare immediatamente il medico e mostrargli il contenitore o l'etichetta. Se la vittima è cosciente, lavare la bocca con acqua.

S56 (P273): Smaltire questo materiale e relativi contenitori in un punto di raccolta autorizzato per rifiuti pericolosi o speciali, applicando la legislazione vigente.

S63 (P304 – P340): In caso di incidente per inalazione, allontanare l'infortunato dalla zona contaminata e mantenerlo a riposo.

Tutti i campioni in esame, calibratori e controlli devono essere trattati come materiale potenzialmente infettivo capace di trasmettere HIV ed epatiti.

PER OGNI ALTRA INDICAZIONE, RICHIEDERE LA SCHEDA DI SICUREZZA COMPLETA AL PRODUTTORE.

SIMBOLOGIA

	Marchio CE (prodotto conforme ai requisiti della Dir. 98/79 CE)		
	Dispositivo medico diagnostico in vitro		Limiti temperatura di conservazione
	Consultare istruzioni per l'uso		Dimensione / numero test
REF	Numero di catalogo		Scadenza
LOT	Numero di lotto		Fabricante

BIBLIOGRAFIA

Barham, D. and Trinder, P. Analyst. 97 : 142 (1972).

Fossati, P., Prencipe, L. and Berti, Q. Clin. Chem. 26 : 227 (1980).

Nguyen H. Chinh, Clin.Chem.20/4, 499-501 (1974).