ACIDO URICO PARA DETERMINACIÓN DIRECTA METODO TPTZ - LIGAND

PRINCIPIO:

El Ácido Úrico en un pH controlado y en la presencia de Fe⁺³ y proteínas es oxidado a alloxano y urea. Los iones Fe⁺³ son estequiométricamente reducidos a Fe⁺², los cuales forman un complejo cromógeno azul con el reactivo TPTZ.

REACTIVOS:

Reactivo N° 1:

BUFFER DE ACETATO a pH 4.9 ± 0.05 con preservativos.

Reactivo N° 2:

REACTIVO DE COLOR TPTZ en un medio Acido de HCI.

Reactivo N° 3:

REACTIVO DE HIERRO Sulfato de hierro y amonio en medio de H₂ SO₄.

Reactivo N° 4:

PATRON DE ACIDO URICO Sulfato de hierro y amonio equivalente a 8mg%.

MUESTRA

- Suero
- Orina.
- Recoger orina de 24 horas. Agregar 2ml de Ácido Clorhídrico concentrado para prevenir precipitación de uratos.
- 2. Hacer una dilución de 1:10 de orina con ácido perclórico al 3.5%.

CONDICIONES:

Longitud de onda: 593 nm. Temperatura: Menor de 30°C. Cero: Contra Blanco Reactivo.

PROCEDIMIENTO:

	Blanco	Muestra	Patrón
React. N°1	3,0 ml	3,0 ml	3,0 ml
Agua Dest.			0,5 ml
Muestra		50 µl	
Patrón			50 µl
React. N°2	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml
React. N°3	0,5 ml	0,5 ml	

Mezcle bien y deje 8min. A temperatura ambiente. Lea 593± 5nm y lleve a cero con el Blanco Reactivo en el Klett use filtro verde.

Estabilidad de la reacción: 15min.



Diagno-Test, C.A. Rif. J-41136948-9

CALCULOS:

a)En Suero:

 $\frac{Ab.muestra}{Ab.Patr\acute{o}n} \times Conc. Patr\acute{o}n (mg/dl)$

= mg/dl Acido Urico

VALORES NORMALES:

Hombre: 4.0 - 8.5 mg/dl.

Mujer: 2.8 - 7.5 mg/dl.

b)En Orina:

 $Co = \frac{Ao}{Av} \times Cp \times 10 \times V. T. O. (Litros)$

Co=Concentración de la muestra de orina.

Ao= Absorbancia de la muestra.

Ap= Absorbancia del patrón.

Cp= Concentración del patrón.

10= Factor de dilución de la orina.

V.T.O= Volumen total de la orina en 24 horas (litros).

VALORES NORMALES

- Volumen normal de orina en 24horas.
 600-1.600 ml/24 horas.
- Valor Ácido Úrico normal: 250-750mg. En orina/24 horas.
- Con dieta baja de purinas: hasta 450mg. En orina/24 horas.
- Con dieta alta de purinas: hasta 1.000mg. En orina/24 horas.

OBSERVACIONES:

- La muestra se conserva 12 horas a temperatura ambiente a 48 horas refrigeradas. Si el periodo es más largo, el suero debe congelarse.
- Si se deja el suero en contacto con los glóbulos rojos, o si el suero se contamina el ácido úrico se destruye.
- La vidriería contaminada con sustancias reductoras (por ejemplo: sulfitos, bisulfitos, iones estannoso, iones ferrosos, ascorbatos, etc.) pueden volver azul el reactivo; si esto sucede, debe descartarse.
- Sueros altamente ictéricos o lipérnicos no dan buenos resultados con este método.
- Muestras conteniendo oxalatos, citratos, fluoruros o EDTA, no deben usarse porque forman complejos con los iones férricos y dan resultados bajos falsos.
- El ácido ascórbico y el ácido gentísico interfieren en la

- reacción en concentraciones de 1 mg/dl para dar resultados altos falsos.
- El Formol, disminuye severamente la reacción y cualquier estándar, que contenga formol no debe usarse en este método.
- Las proteínas no afectan la reacción entre 1-12 gms de albúmina/dl y además ayuda a incrementar la reducción del ion férrico al 100%

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Offer. TR, Cent. Physiol, 8:801 (1894).
- 2. Follin, W. and W. Denis, J. Biol, Chem, 13:1469 (1912-13).
- 3. Benedict, Sr. J. Biol, Chem, 51:187 (1922).
- 4. Caraway, WT, Am J. Clin. Path, 24:840 (1955).
- 5. Brown, H. J. Biol. Chem, 68:123 (1926).
- 6. Bulger, HA and ME Johns, J. Biol. Chem, 140:427 (1941).
- 7. Bittner, D. et al, Am. J. Clin Path, 40:423 (1963).
- 8. Krautman, B. Am, J. Clin Path, Tech. Suppl, 3:9 (1939).
- 9. Henry, RJ et al, Am J. Clin Path, 28:152 (1975).
- 10. Kalekar, HM. J. Biol. Chem, 167:429 (1947).
- 11. Practorius, E and H. Poulsen, Seand J. Clin. Lab. Invest, 5:273 (1953)
- 12. Liddle, L et al, J. Lab. Clin Med, 54:903 (1959)
- 13. Morin, L.G. and J. Prox, Am J. Clin Path, 60:691 (1973)
- 14. Morin, L.G., Clin. Chem, 20:51 (1974)