

UPOTREBA

Reagens se koristi za određivanje koncentracije mokraćne kiseline u serumu, plazmi i urinu.

METODA

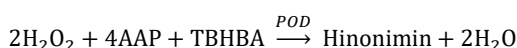
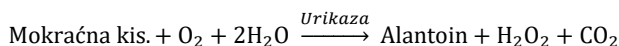
Enzimski metod sa urikazom i TBHBA hromogenom.

KLINIČKI ZNAČAJ

Mokraćna kiselina je krajnji produkt metabolizma hranom unetih i u organizmu sintetisanih purina u organizmu ljudi. Do povećanja koncentracije mokraćne kiseline dolazi usled pojačane sinteze purina, kod povećanog unosa purina hranom ili smanjenog izlučivanja putem bubrega. Postoji više stanja i poremećaja kod kojih je povećana koncentracija mokraćne kiseline (npr. kod gihta).

PRINCIP ODREĐIVANJA

Katalitičkim dejstvom urikaze mokraćna kiselina se oksidiše do alantoina uz nastajanje hidrogenperoksida. Izdvojeni hidrogenperoksid se uključuje u reakciju oksidativnog kuplovanja između reagensa za kuplovanje - 4-aminoantipirina (4-AA) i hidrogen donor reagensa - 2,4,6-tribromo-3-hidroksibenzojeve kiseline u prisustvu peroksidaze (POD). Intenzitet boje nastalog hinonimina proporcionalan je koncentraciji mokraćne kiseline¹⁻³:

**REAGENSI**

Mokraćna kiselina, Ref: MOK-250 se sastoji od 2 reagensa i 1 standarda:

Reagens 1 (Rg.1)	2 x 100 mL
Reagens 2 (Rg.2)	1 x 50 mL
Standard mokraćne kiseline	1 x 3 mL

SASTAV REAGENASA

Rg.1 Fosfatni pufer pH 7	100 mmol/L
TBHBA	1 mmol/L
Surfaktanti	
Rg.2 Fosfatni pufer pH 7	100 mmol/L
Urikaza	> 200 U/L
POD	> 5 KU/L
4-AAP	0,5 mmol/L
Stabilizatori	
Konzervansi	

Standard mokraćne kiseline

Koncentracija je navedena na bočici

UPOZORENJE

1. Koristiti isključivo za dijagnostiku *in vitro*.
2. Voditi računa o propisanoj eliminaciji otpada. Ako se odbacuje u kanalizaciju, isprati velikom količinom vode.
3. Da bi se izbegla kontaminacija koristiti čist pribor ili laboratorijsku opremu za jednokratnu upotrebu.

PRIPREMA REAGENSA

Reagens je spreman za upotrebu.

STABILNOST REAGENSA

Originalno pakovan reagens stabilan je do isteka roka označenog na bočici, ako se čuva na propisanoj temperaturi i zaštićen od svetlosti.

UZORCI

Kao uzorak se koristi serum, plazma pripremljena sa heparinom i urin razblažen deset puta.

Stabilnost : 3 dana na 20-25 °C

7 dana na 4-8 °C

6 meseci na -20 °C

DODATNI POTREBNI MATERIJALI

Opšta laboratorijska oprema i rastvori

- Multikalibrator	Ref: KLB-012	4x3 mL
- Kontrolni serum N	Ref: KSN-020	4x5 mL
- Kontrolni serum P	Ref: KSP-020	4x5 mL

ANALITIČKA PROCEDURA

Analitički parametri testa:

Talasna dužina :1°/2°	546 / 660 nm
Kiveta :	1 cm
Temperatura :	37° C
Odnos : uzorak / reagens	2 / 100 / 25
Reakcija :	End Point
Inicijalna A reagensa :	< 0.2 Abs

Pipetirati u epruvete :

	Auz	Ast	Aspr
Uzorak	16 µL	-	-
Standard	-	16 µL	-
Dejonizovana voda	-	-	16 µL
Reagens 1	800 µL	800 µL	800 µL

Pripremljene rastvore promešati i posle 3-4 minuta izmeriti apsorpcije uzorka (Auz1) i standarda (Ast1) na 546 nm, prema slepoj probi (Aspr), a zatim dodati:

	Auz	Ast	Aspr
Reagens 2	200 µL	200 µL	200 µL

Promešati reakcionu smešu i inkubirati 10 minuta na 20-30°C ili 5 minuta na 37°C, a zatim izmeriti apsorpcije uzorka (Auz2) i standarda (Ast2) prema slepoj probi reagensa (Aspr) na λ= 546 nm.

KALIBRACIJA

Za kalibraciju koristiti standard mokraćne kiseline ili multikalibrator

Tip kalibracione krive : Linearan

Rekalibraciju vršiti :

- nakon promene serije reagensa

- ukoliko su dobijene vrednosti kontrola izvan prihvatljivog opsega

KONTROLA KVALITETA

Za kontrolu kvaliteta preporučuje se korišćenje kontrolnih seruma.

IZRAČUNAVANJE

$$C = \frac{(A2 - A1)_{\text{uzorka}}}{(A2 - A1)_{\text{kalibratora}}} \cdot C_{\text{kalibratora}}$$

NAPOMENA

Ako je uzorak urina zamućen, zagrijati urin na 60°C u toku 10 minuta da bi se mokraćna kiselina rastvorila.

REFERENTNE VREDNOSTI

Serum / plazma :

Muškarci:	202 – 416 µmol/L
Žene:	142 – 339 µmol/L

Urin (prema Tietz-u) :

Ishrana sa malo purina :

Muškarci	< 480 mg/24 h urin
Žene	< 400 mg/24 h urin

Normalna ishrana :

250 – 750 mg/24 h urin

Ishrana sa puno purina :

< 1000 mg/24 h urin

ANALITIČKE KARAKTERISTIKE TESTA

Parametri validacije su izračunati na osnovu rezultata ispitivanja na analizatorima Roche 902 i Abbott –Alcion.

Opseg merenja

Od 10 do 1400 µmol/L mokraćne kiseline.

Ukoliko je koncentracija mokraćne kiseline veća od 1400 µmol/L, razblažiti uzorak (1+2) sa fiziološkim rastvorom i rezultat pomnožiti sa 3.

Limit detekcije (LOD) i limit kvantifikacije (LOQ)

LoD = 4 µmol/L

LoQ= 10 µmol/L

Osetljivost određivanja (S)

S=A/c=0,24 ΔmAbs po µmol/L

Interferencije

Na određivanje mokraćne kiseline ne utiču sledeće supstance:

bilirubin	c < 200 umol/L (11,7 mg/dL)
hemoglobin	c < 1,0 g/L
trigliceridi	c < 20,0 g/L.

Askorbinska kiselina ometa određivanje i u minimalnim koncentracijama.

Preciznost određivanja

Reproducibilnost unutar serije

Uzorak 1	Xsr = 257,4	Sd = 7,64	KV = 2,97 %
Uzorak 2	Xsr = 657,2	Sd = 8,48	KV = 1,29 %

Reproducibilnost između serija

Uzorak 1	Xsr = 258,86	Sd = 6,89	KV = 2,66 %
Uzorak 2	Xsr = 657,30	Sd = 8,45	KV = 1,29 %

Korelacija

Urađena je komparativna analiza⁴ između metode firme BIOANALYTICA i komercijalnog testa druge firme na 75 uzoraka humanog seruma. Dobijeni su sledeći parametri linearne regresione analize:

Linearna regresija
y = 1,012 x - 2,86 µmol/L
r = 0,999

Passing-Bablok
y = 1,011 - 3,01 µmol/L

LITERATURA

1. R.Henry, Clinical Chemistry, Principles and Technics, 2nd ed. New York, NY: Harper & Row, 723, 1974.
2. B. Štraus, Medicinska Biokemija, Medicinska naklada Zagreb, 1992.
3. M.J.Stankov, P.Đurđević, D.Stankov, Determination of uric acid in human serum by an enzymatic method using N-methyl-N-(4-aminophenyl)-3-methoxyaniline reagent, J.Serb.Chem. Soc. 68, 691 - 698, 2003.
4. H. Passing, W.A. Bablok, A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part I.J Clin Chem and Clin Biochem 21(11), 709-720, 1983.



Bioanalytica d.o.o.
Agostina Neta 84/2, Beograd,
Srbija
www.bioanalytica.rs



Bioscience Medical SL
Velazquez 126, 7AB,
Madrid, Spain



Broj rešenja o upisu : _____