

INSTITUTO DE NEFROLOGIA

Acido úrico por el método de Henry Sobel Kim. Comparación de macro y micrométodo

Por la Dra.:

MARTA DEL VALLE PUPO*

y las técnicas:

CELIA VELAZQUEZ** y AMERICA CASTELL***

del Valle Pupo, M. y otros. *Acido úrico por el método de Henry Sobel Kim. Comparación de macro y micrométodo.* Rev Cub Ped 54: 6, 1982.

Se procesaron 20 muestras de pacientes diferentes por el método de Henry Sobel Kim para la determinación de ácido úrico, en su forma original y reduciendo diez veces los reactivos y las muestras. Se aplicó el test T para series apareadas, y se obtuvo un T práctico de 0,5, menor que el T teórico que para 20 muestras fue de 2 086, para un límite de confianza de 0,05, por lo que se concluyó que ambos procedimientos pueden ser usados con iguales resultados.

INTRODUCCION

Entre los compuestos nitrogenados no proteicos se encuentra el ácido úrico.¹

Este compuesto deriva del catabolismo endógeno de las proteínas tisulares y de los prótidos alimenticios. Constituye uno de los productos finales de los ácidos nucleicos, nucleótidos y de las bases púricas guanina y adenina, además, en menor cantidad, de las bases pirimídicas timina y citosina.²

No se conoce el sitio exacto de su producción, pero se señala que en el hígado y en la médula ósea parece haber mayor actividad.³

Se elimina en mayor cantidad por la orina, parte por la bilis y el resto es destruido en el intestino.^{2,3}

* J'Dpto. laboratorio clínico, Instituto de Nefrología.

** Técnica del laboratorio clínico. Hospital pediátrico provincia docente "Octavio de la Concepción y de la Pedraja", Holguín.

*** Técnica de laboratorio clínico, Instituto de Nefrología.

Su determinación tiene gran uso en la clínica médica, aunque de forma aislada no nos sirve para asegurar ningún diagnóstico. Sin embargo, algunos autores plantean que su aumento puede ser un signo precoz de insuficiencia funcional renal.⁴ Pero en la actualidad ese valor se le ha dado a la creatinina.

Los valores normales se aceptan de 2 a 4 mg%, en el hombre, y en el niño hasta 5 mg%.^{3,4} En la práctica, encontramos cifras de 2 a 5 mg %.

Cuando se eleva por encima de 5 mg % es patológico. Se citan casos hasta de 30 mg %.⁴ Hemos visto un paciente con 50 mg% en la fase terminal de su insuficiencia renal.

Puede haber hiperuricemia en las enfermedades donde exista un trastorno del metabolismo de las purinas, como en la gota; en la insuficiencia renal, anurias u oligurias obstructivas; por exagerada destrucción celular, como en: leucemias, policitemias, durante la fusión del bloque pulmonar en las neumonías;⁴ mieloma múltiple; en la fase regenerativa de algunas anemias como la perniciosa, poshemorrágica, hemolítica; de forma pasajera en infecciones agudas.^{4,5}

La hiperuricemia marcada puede causar bloqueo renal por precipitación al nivel de los túbulis. El alopurinol reduce las concentraciones de ácido úrico en sangre por inhibición de la xantina oxidasa.⁶

Los métodos en uso utilizan 1 ml de suero, lo que hace un tanto difícil su determinación en pediatría. Esto nos motivó a la realización de este trabajo en el Hospital pediátrico provincial docente de Holguín y en el Instituto de Nefrología.

MATERIALES Y METODOS

Se procesaron 20 sueros de pacientes diferentes, por el método de Henry Sobel Kim en su forma original y reduciendo los reactivos y las muestras diez veces.

Materiales y equipos

1. Jeringuillas de 10 ml.
2. Aguja 20 G por 1.
3. Tubos de cristal 13 por 100 y 13 por 150.
4. Embudos de cristal.
5. Papel de filtro.
6. Centrífuga T-23.
6. Centrífuga Eppendorf.
8. Agitadora Eppendorf.
9. Tubos plásticos Eppendorf.
10. Pipetas de cristal graduadas de: 1 y 10 ml.
11. Pipetas semiautomáticas Eppendorf de 50 y 100 microlitros.
12. Fotómetro de bandas espectrales Eppendorf.

Reactivos⁷

1. Acido sulfúrico 2/3 normal.
ácido sulfúrico concentrado 30 ml
agua destilada 1 300 ml
2. Tungstato de sodio al 10%. (p/v) solución acuosa.
3. Carbonato de sodio al 14%. (p/v) solución acuosa.
Guardar en frasco de polietileno a temperatura ambiente.
4. Acido fosfotúngstico.

En un erlenmeyer pyrex de 1 000 ml, echar 30 g de tungstato de sodio y disolver con 300 ml de agua destilada, agregar lentamente 32 ml de ácido ortofosfórico (85%). Agregar perlas de cristal. Adaptar un condensador de reflujo y dejar hervir dos horas. Enfriar. Pasar el contenido a un balón de 1 000 ml, agregar 16 g de sulfato de litio, disolver y completar hasta el enrase con agua destilada. Guardar en refrigeración en frasco de polietileno. Esta solución queda al final con un color azul tenue, no debe ser verdosa.

5. Patrón de reserva para ácido úrico

En un balón de 1 000 ml echar 100 mg de ácido úrico. Aparte, disolver 0,3 g de carbonato de litio en 100 ml de agua destilada, calentar a 60 grados centígrados; agregar esta solución al balón que contiene el ácido úrico; mezclar hasta disolver el ácido (puede tener ligera turbidez). Enfriar. Agregar 20 ml de formol al 40%; diluir hasta 500 ml y añadir 15 ml de ácido sulfúrico normal; mezclar y completar hasta el enrase con agua destilada. Guardar en refrigeración en lugar oscuro. Equivale 1 ml a 0,1 mg o lo que es igual 10 mg %.

Método Henry Sobel Kim

Fundamento

Cuando se trata un filtrado libre de proteínas del suero, con carbonato de sodio y ácido fosfotúngstico con una concentración tal que lleve el pH final igual al pK_2 del ácido carbónico; el ácido úrico alcanza un color azul proporcional a la concentración en la muestra.⁸

Proceder

Macrométodo

1. Previa desinfección con un algodón embebido en alcohol de 70 grados; de la zona escogida para la punción venosa, extraer 5 ml de sangre y echarlos en un tubo 13 por 100.
2. Esperar la retracción del coágulo; centrifugar a 2 500 rpm durante diez minutos.

3. Realizar filtrado libre de proteínas al suero (FLP).

Suero	1 ml
Agua destilada	8 ml
Acido sulfúrico 2/3 normal	0,5 ml
Tungstato de sodio al 10%	0,5 ml

mezclar, dejar en reposo 15 minutos, filtrar.

4. Rotular nuevos tubos señalando, blanco (B), patrón (P) y muestra (M).

	(B)	(P)	(M)
FLP	—	—	3 ml
Agua destilada	3 ml	—	—
Solución patrón	—	3 ml	—
Carbonato de sodio al 14%	1 ml	1 ml	1 ml
Acido fosfotúngstico	1 ml	1 ml	1 ml

mezclar, dejar en reposo 15 minutos en la oscuridad, leer frente al blanco con filtro 578 nm del Eppendorf.

Micrométodo

1. En un tubito plástico Eppendorf, echar 1 ml de sangre.
2. Después de la retracción del coágulo, centrifugar dos minutos en la microcentrífuga.

3. Hacer FLP al suero:

Suero	0,1 ml
Agua destilada	0,8 ml
Acido sulfúrico 2/3 normal	0,05 ml
Tungstato de sodio al 10%	0,05 ml

agitar dos minutos en agitadora Eppendorf y después de dejar reposar 15 minutos, centrifugar dos minutos en microcentrífuga.

4. Rotular nuevos tubos señalando, blanco (B), patrón (P) y muestra (M).

	(B)	(P)	(M)
del sobrenadante	—	—	0,3 ml
agua destilada	0,3 ml	—	—
solución patrón	—	0,3 ml	—
carbonato de sodio al 14%	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml
ácido fosfotúngstico	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml

mezclar, dejar en reposo 15 minutos en la oscuridad y leer frente al blanco con filtro 578 nm en el Eppendorf.

Cálculos:

$$DOM \times \frac{10}{DOP} = CM$$

Para el análisis de los resultados fueron usadas las fórmulas siguientes:⁹

$$DS = \sqrt{\frac{\sum D^2 - (\sum D)^2}{N - 1}}$$

$$\bar{D} = \frac{\sum D}{N}$$

$$T_p = \frac{\bar{D}}{DS} \sqrt{N}$$

RESULTADOS

La DS dio la cifra de 0,39. Calculada con los valores de D igual a 1; y D² igual a 3,92. El resultado de \bar{D} fue de 0,05 y el índice de prueba t o T práctico 0,5 (cuadro).

CUADRO

ACIDO URICO POR HENRY SOBEL KIM COMPARACION DE MACRO Y MICROMETODO

N	Macro x1	Micro x2	(D = x1 - x2)	D ²
1	6	6	0	0
2	15,3	15	+0,3	0,09
3	3,9	3	+0,9	0,81
4	8,2	7,6	+0,6	0,36
5	5	6	-1	1
6	10	9,3	+0,7	0,49
7	11	12	-1	1
8	4,1	3,9	+0,2	0,04
9	6,6	6	+0,6	0,36
10	9	9	0	0
11	5,4	5	+0,4	0,16
12	10,2	10,3	-0,1	0,01
13	8	8	0	0
14	6,5	5,9	+0,6	0,36
15	7,2	8	-0,8	0,64
16	5,1	4,8	+0,3	0,09
17	2	2	0	0
18	2	2,3	-0,3	0,09
19	6	6,6	-0,6	0,36
20	7	6,8	+0,2	0,04
			+1	3,92

Fuente: este trabajo.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

El índice de la prueba "t" nos dio resultados por debajo del T teórico, que para el número de muestras estudiadas es de 2,086. Cuando el "T" práctico es menor que el "T" teórico entre ambos métodos no hay diferencia significativa, por lo que pueden usarse con iguales resultados.

SUMMARY

Del Valle Pupo, M. et al. *Uric acid by Henry Sobel Kim method. Macro and micromethod comparison.* Rev Cub Ped 54: 6, 1982.

Twenty samples of different patients were processed by Henry Sobel Kim method for uric acid determination in its original form and decreasing ten times reactives and samples. T test for paired series was applied and a 0,5 practical T smaller than a 2 086 theoretical T for 20 samples, with 0,05 confidence boundary, was obtained, so it was concluded that both procedures can be used and equal results are obtained.

RÉSUMÉ

Del Valle Pupo, M. et al. *Acide urique par la méthode de Henry Sobel Kim. Comparaison de la macro et de la microméthode.* Rev Cub Ped 54: 6, 1982.

Les auteurs ont analysé 20 échantillons de différents patients suivant la méthode de Henry Sobel Kim pour le dosage d'acide urique, d'après sa forme originale et en réduisant dix fois les réactifs et les échantillons. Ils ont appliqué le test T pour des séries couplées, et il a été obtenu un T pratique de 0,5, inférieur au T théorique qui pour 20 échantillons a été de 2 086, pour une limite de fiabilité de 0,05; donc les auteurs ont conclu que les deux procédés peuvent être employés avec des résultats similaires.

РЕЗЮМЕ

Дель Валье Пупо, М и соавт. Определение уриной кислоты по методу Генри Собеель Ким. Сравнение микро и макро метода. Rev Cub Ped 54: 6, 1982.

Для определения уриновой кислоты в оригинальной форме о синтезируя в десять раз реактивы и пробы, были обработаны с помощью метода Генри Собеель Ким 20 проб, полученные от различных больных. Был применен тест Т для парных серий и получено, что практическое значение Т соответствовало 0,5, т.е. ниже Т теоретического, который для 20 проб соответствовал 2 086 для предельной границы, равный 0,05. В заключении высказывается, что ввиду этого обстоятельства обе процедуры могут быть использованы для получения одинаковых результатов.

BIBLIOGRAFIA

1. *Guyton, A.*: Tratado de fisiología médica. 2da. ed. La Habana, Ed. Revolucionaria, 1966. P. 120.
2. *Wolman, I. J.*: Laboratorio y pediatría. Aplicaciones del laboratorio a la clínica pediátrica. Madrid. Ed. Paz Montalvo, 1960. P. 593.
3. *Mas Martin, J. C. y otros*: Laboratorio clínico. La Habana, ICL. Ed. Ciencia y Técnica, 1968. P. 182.
4. *Ibidem*, p. 83.
5. *Wolman, I. J.*: Obra citada. P. 594.
6. *Wintrobe, M. M.*: Hematología clínica. 3ra. ed. La Habana, Edición Revolucionaria, 1971. P. 765.
7. *Grupo Nacional de Laboratorios Clínicos*: Manual de técnicas para laboratorios clínicos. La Habana. ICL Ed. Ciencia y Técnica, 1969. Pp. 179-184.
8. *Grupo Nacional de Laboratorios Clínicos*: Manual de técnicas para laboratorios clínicos. La Habana, ICL. Ed. Ciencia y Técnica, 1969. Pp. 34-35.
9. *Henry, R. J. et al.*: Química clínica. Bases y técnicas. 2da. ed. vol. I, España, Ed. Jims, 1980. P. 324.

Recibido: 5 de noviembre de 1981.

Aprobado: 15 de febrero de 1982.

Dra. Martha del Valle Pupo
Ave. 9na. No. 4409 e/ 44 y 46
Miramar, Municipio Playa.
La Habana 16.