

Revista Mexicana de Patología Clínica

Volumen
Volume 48

Número
Number 4

Octubre-Diciembre
October-December 2001

Artículo:

Estado del arte en la determinación del ácido úrico

Derechos reservados, Copyright © 2001:
Federación Mexicana de Patología Clínica, AC

**Otras secciones de
este sitio:**

-  [Índice de este número](#)
-  [Más revistas](#)
-  [Búsqueda](#)

***Others sections in
this web site:***

-  [Contents of this number](#)
-  [More journals](#)
-  [Search](#)



www.medigraphic.com

Estado del arte en la determinación de ácido úrico, evaluado frente a un método HPLC

Palabras clave: HPLC, Ácido úrico,
Control Externo de la Calidad.

Key words: HPLC, Uric acid, External
Quality Assessment.

Recibido: 23/08/01
Aceptado: 25/09/01

Sergio Santana Porbén,* Luis Muñoz Vázquez,* Jorge Larramendis
Céspedes,* Jorge Melián Consuegra,* Jorge Suardiáz Pareras*

* Servicio de Laboratorio Clínico. Hospital "Hermanos Ameijeiras".
San Lázaro No. 701. Ciudad de La Habana 10300, Cuba.

Correspondencia:
Dr. Sergio Santana Porbén.
Apartado Postal 6192.
Ciudad de La Habana 10600, Cuba.
E-mail: gan@hha.sld.cu

210

Resumen

Se utilizó un método HPLC de fase reversa para determinar el contenido de ácido úrico en 18 muestras de suficiencia (100% de suero equino) que fueron ensayadas durante 1993 y 1994 por los laboratorios clínicos participantes en el Programa Cubano de Control Externo de la Calidad. Los resultados reportados por los participantes se distribuyeron según el método químico empleado localmente en la determinación de ácido úrico (reducción del ácido fosfotúngstico, uricasa/manual, uricasa/automatizado) y se compararon con el valor obtenido por la aplicación HPLC. El intervalo permisible para la desviación respecto del valor-HPLC incluyó la mediana junto con 50% de los resultados obtenidos localmente con la reacción del ácido fosfotúngstico. El mayor número de valores aberrantes se asoció al uso del método colorimétrico. El paso a un método enzimático/automatizado significó una reducción de la frecuencia de aberrantes y un aumento marginal en el número de resultados satisfactorios. La versión manual de la reacción de la uricasa se caracterizó por su consistente desviación respecto del valor-HPLC. Se demuestran así las ventajas de la introducción de aplicaciones HPLC para analitos de química clínica, en un Programa de Control Externo, al disponer de una herramienta para identificar a los métodos químicos con pobre desempeño y segregarlos de aquéllos con un rendimiento superior.

Summary

A reversed-phase HPLC method was used to determine the content of uric acid in eighteen proficiency samples based on equine serum (100%), that were in turn assayed by the Clinical Laboratories participating in the monthly Introduction surveys conducted by the Cuban External Quality Control National Program during the 1993- and 1994-year campaigns. The reported results were then distributed according with the chemical method locally used in the measurement of uric acid, and compared with the HPLC-value. The interval for the allowable deviation from the HPLC value included the median together with 50% of the results obtained locally with the phosphotungstic acid reaction. The use of this colorimetric method was associated with the highest proportion of outlying values. The move towards an automatized/mechanized method brought about a reduction in the frequency of outliers, and a marginal increase in the number of satisfactory results. The manual version of the uricase reaction was characterized by a deviated behaviour from the HPLC-value. The results presented in this article demonstrate the advantages of the inception of HPLC applications for Clinical Chemistry analytes in an External Quality Control Program.

Introducción

En este trabajo se exponen los resultados del desarrollo y la validación estadística de una aplicación HPLC de fase reversa para la determinación de ácido úrico, y su introducción en el Programa Cubano de Control Externo de la Calidad, para evaluar el rendimiento actual de los métodos químicos empleados para cuantificar ese analito en nuestro medio. En un artículo anterior se presentó el estado del arte de la determinación de creatinina después de introducir una aplicación HPLC para ese analito en el Programa Cubano.¹

Material y métodos

Procederes cromatográficos: una aplicación HPLC de ácido úrico descrita con anterioridad² fue validada extensamente en el Centro Nacional de Referencia (Hospital Clínico-Quirúrgico “Hermanos Ameijeiras”), antes de emplearla en la asignación de “valores de referencia” a las muestras de suficiencia del Programa Cubano. El equipamiento HPLC incluyó: columna Nucleosil ODS RP-C (250 x 40 mm) empaquetada con partículas de 7 mm de diámetro, precolumna de Nucleosil ODS con partículas de 10 mm de diámetro, bomba de doble pistón (Modelo 2150), unidad controladora (Modelo 2152), monitor UV-VIS (Modelo 2151) e integrador-calculador (Modelo 2220), todos de LKB Bromma (Suecia). Como fase móvil se utilizó una solución de KH_2PO_4 0.05 M (pH de 5.0). El flujo de la fase móvil se ajustó a 1.0 mL/min. El ácido úrico eluido se monitoreó a 280 nm. Los reactivos empleados fueron de calidad analítica.

Calibración de la aplicación HPLC: se preparó una solución madre de ácido úrico 5.95 mmol/L disolviendo 100 mg de ácido úrico p.a. (Merck, Alemania) en 100 mL de una solución de Li_2CO_3 0.01 M.³ Se construyó una curva de calibración para cada corrida diluyendo 100 µL de la solución madre de ácido úrico 5.95 mmol/L con volúmenes adecuados de la fase móvil para obtener pa-

trones de 59.5, 119, 238, 297.5, 446.25, 595, 892, y 1190 µmol/L, respectivamente. Los patrones de calibración, las muestras clínicas frescas, los sueros de control y las muestras de suficiencia se desproteinizaron con ácido perclórico 0.4 mol/L.⁴ 500 µL del sobrenadante se mezclaron con 500 µL de una solución de NaHPO_4 0.25 mol/L y 25 µL de la mezcla se inyectaron en el cromatógrafo con una jeringuilla Hamilton.

Construcción de la curva dosis-respuesta: el contenido de ácido úrico en las muestras desconocidas se calculó mediante una línea recta ajustada a la relación altura-del-pico vs concentración de ácido úrico. Los parámetros de la línea recta se estimaron mediante un procedimiento ponderado de regresión lineal,⁵ con la función de potencia:

$$\text{Varianza (altura-del-pico)} = \alpha^*(\text{altura-del-pico})^\beta$$

como la función modeladora de la varianza.

Ensayo de detección enzimática del pico de ácido úrico: 100 µL de la solución madre de ácido úrico 5.95 mmol/L se incubaron con 100 µL (1.7 U) de uricasa (Laboratorios Finlay, ciudad de La Habana) en 1000 µL de una solución tamponada de fosfato monosódico/disódico 0.15 M (pH de 7.0) durante 30 minutos a 37°C. La mezcla resultante se desproteinizó⁴ y 25 µL del sobrenadante se inyectaron en el cromatógrafo. Se realizaron incubaciones en paralelo de 100 µL de la solución madre de ácido úrico 5.95 mmol/L en ausencia de uricasa. También se incubó, en presencia o ausencia de uricasa, suero humano suplementado con un volumen de la solución madre de ácido úrico 5.95 mmol/L para obtener una concentración final de 250 µmol/L.

Ensayo de recuperación: los patrones de calibración se prepararon diluyendo la solución madre de ácido úrico 5.95 mmol/L con volúmenes adecuados de suero humano o equino, en vez de fase móvil. El suero suplementado se desproteinizó y se ensayó por duplicado mediante la aplicación

HPLC. Se calculó el porcentaje de recuperación de los patrones de ácido úrico diluidos en suero respecto de sus similares diluidos en fase móvil.

Ensayo de imprecisión: se prepararon sendos pools de suero humano con niveles de concentración de ácido úrico dentro del rango intercuartil del intervalo de referencia clínico y francamente patológicos, respectivamente. Cada pool se ensayó por quintuplicado durante seis días consecutivos. Los componentes dentro-del-día y día-a-día del error total se estimaron según la referencia 6.

Estudios de comparación de métodos: se emplearon muestras de suero de 60 pacientes que asistieron al Servicio de Laboratorio Clínico del Hospital "Hermanos Ameijeiras", las 18 muestras de suficiencia del Programa cubano (100% de suero equino) y ocho sueros con valores de ácido úrico asignados por el United Kingdom External Quality Assessment Scheme (UK-EQAS, Wolfson Laboratories, Birmingham, Inglaterra). Cada muestra se dividió en dos alícuotas. La primera se ensayó mediante la aplicación HPLC y la segunda por el método enzimático/espectrofotométrico instalado en un autoanalizador HITACHI 704 (Boehringer-Mannheim, Alemania). Los resultados de los estudios de comparación de métodos se trataron mediante el programa RegMcc.⁷

Estudios de interferencia: varias sustancias que pudieran interferir con la determinación de ácido úrico mediante el método enzimático/espectrofotométrico se ensayaron mediante la aplicación HPLC, primero como una solución pura del analito y después como una mezcla v/v con ácido úrico 300 $\mu\text{mol/L}$. Las sustancias analizadas en los ensayos de interferencia fueron: hemoglobina 3.5 g/L, urea 25 mmol/L, secobarbital 20 mg/mL, diazepam (valium) 20 mg/mL, amobarbital 20 mg/mL, ácido acetilsalicílico (aspirina) 10 mg/mL, fenobarbital 20 mg/mL, ácido ascórbico 25 mmol/L y glucosa 22 mmol/L.

Muestras de suficiencia: las características de las muestras de suficiencia se han descrito previamente.^{1,8}

Conducción de las investigaciones: la conducción de las investigaciones y el análisis estadístico de los resultados obtenidos se hizo como se describe en la referencia 1. Para que el participante reciba una evaluación satisfactoria debe producir, con cualquiera de los métodos químicos, valores de ácido úrico que queden incluidos dentro del intervalo: valor-HPLC $\pm 18\%$. El Programa Cubano de Control Externo de la Calidad ha recomendado que la desviación permisible respecto del valor-HPLC sea de $\pm 3 \times \text{CV}$ (para 99% de confianza estadística), donde CV es la imprecisión analítica permisible para la determinación de ácido úrico. El Programa Cubano ha adoptado el CV = 6.0 del United Kingdom External Quality Assessment Scheme (Birmingham, Inglaterra).⁹

Resultados

Resultados de la validación de la aplicación HPLC de ácido úrico: el ácido úrico adsorbido eluyó, aproximadamente, a los seis minutos con la fase móvil descrita (figura 1). Hubo una buena resolución del pico de ácido úrico de otros componentes que eluyeron en el volumen muerto. Ninguna de las sustancias analizadas en los ensayos de interferencia coeluyó con el ácido úrico y todas emergieron en el volumen muerto de la columna cromatográfica. La identidad del pico de ácido úrico se estableció también mediante un ensayo de detección enzimática. Los picos correspondientes al ácido úrico presente en una solución pura o en una matriz sérica desaparecieron después de incubar con uricasa (figura 2).

La línea recta ajustada a la relación altura-del-pico vs concentración fue suficientemente lineal para la interpolación del contenido del analito en las muestras desconocidas (cuadro 1).

La recuperación del ácido úrico añadido a un suero humano o equino fue superior a 95% en el rango de concentraciones de la curva de calibración.

La imprecisión total de la determinación de ácido úrico para el pool A (288.1 $\mu\text{mol/L}$) fue de 3.21%,

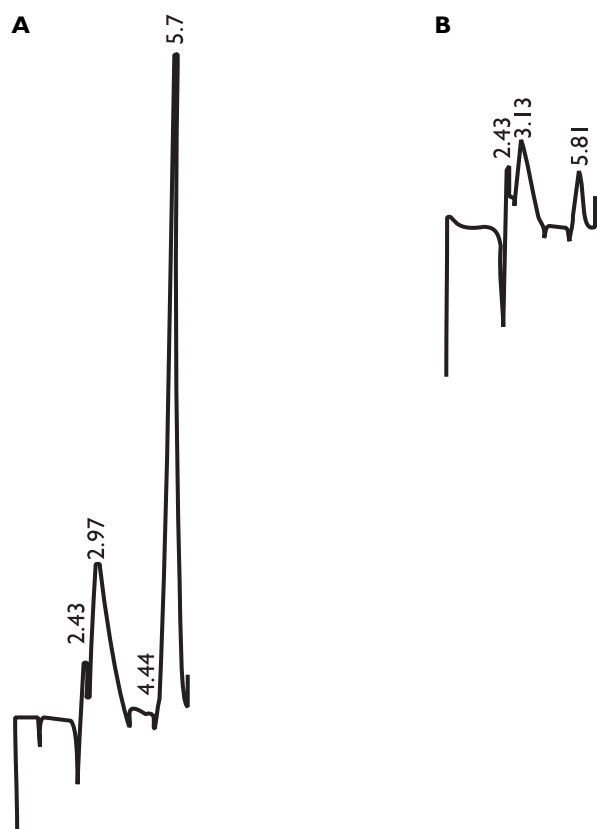


Figura 1. Perfil de elución del ácido úrico. **A:** ácido úrico 600 µmol/L tratado con HClO_4 0.4 M. **B:** ácido úrico 600 µmol/L incubado con uricasa durante 30 minutos a pH de 7.0 y 37°C.

mientras que para el pool B (825.5 µmol/L) fue de 1.73%. Estos estimados son comparables con los reportados en la literatura revisada (figura 3).

Los valores de ácido úrico obtenidos mediante la aplicación HPLC fueron superiores en 30% que los emitidos con el método enzimático/espectrofotométrico, en contraste con la experiencia documentada internacionalmente (figura 4). Este hallazgo se interpretó como dependiente de las características del rendimiento del método químico: el juego de reactivos Uric acid/PAP distribuido por la firma Boehringer-Mannheim (Alemania) para su uso en los autoanalizadores HITACHI devuelve valores de ácido úrico inferiores a los reportados con otros métodos enzimáticos acoplados a diferentes sistemas de revelado y con un método de referencia basado

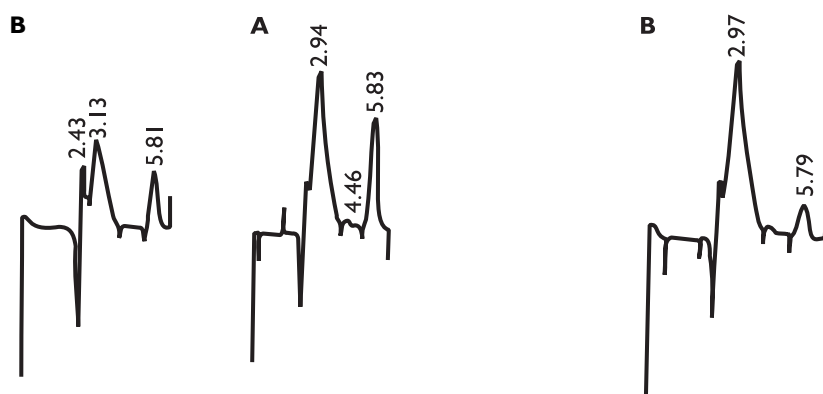


Figura 2. Perfil de elución del ácido úrico sérico. **A:** Suero humano suplementado con 100 µL de ácido úrico 5.95 mmol/L para una concentración final de 600 µmol/L. **B:** Suero humano suplementado después de incubarlo con uricasa.

en técnicas de dilución isotópica/espectrometría de masa.¹⁰ Esta explicación parece plausible porque se observó 92% de equivalencia entre los valores asignados de las muestras de suficiencia del UK-EQAS (Birmingham, Inglaterra) y los obtenidos con la aplicación HPLC. Por consiguiente, los resultados de la validación estadística permitieron concluir que el rendimiento de la aplicación HPLC desarrollada para la determinación de ácido úrico era lo suficientemente confiable para emplearla en la emisión de valores de referencia para las muestras de suficiencia del Programa Cubano.

Estado del arte de la determinación de ácido úrico: el método de la reducción del ácido fosfotúngstico para la determinación de ácido úrico en muestras de suero desproteinizadas fue empleado por 84% de los participantes, convirtiéndolo así en el método químico más empleado en Cuba. Según este método, las muestras de suero se desproteinizan con tungstato de sodio, y el “filtrado” resultante se incubaba con ácido fosfotúngstico durante el tiempo necesario para la formación del cromóforo.¹¹ Los restantes laboratorios utilizaron el método de la uricasa (manual o automatizado) para cuantificar el ácido úrico en muestras enteras de suero.

En el cuadro II se muestran los valores de la “Media del método” calculados al final de las investiga-

Cuadro I. Características del rendimiento de la aplicación HPLC para la determinación de ácido úrico.

Parámetro	Matriz de ensayo ^a	Resultados
Linealidad ^b	Patrones de trabajo (59.5 - 1190 $\mu\text{mol/L}$)	a: 2401.7 (833.70 - 4277.90) b: 197.55 (175.65 - 204.80) r: 0.9972 (0.9931 - 0.9987) SRE: 2.2310 (1.3668 - 3.0290)
Recuperación	Suero humano vs matriz acuosa	110.15 $\pm$ 16.23% (N = 8)
	Suero equino vs matriz acuosa	95.26 $\pm$ 8.09% (N = 8)
Imprecisión ^c	Pool de suero 'A' [288.1 $\mu\text{mol/L}$]	3.21%
	Pool de suero 'B' [825.5 $\mu\text{mol/L}$]	1.73%

^a Calidad de la matriz empleada en la evaluación de la aplicación HPLC.

^b Los resultados se expresan como la mediana y el rango intercuartil (en paréntesis) de los estimados de los parámetros obtenidos en 18 curvas de calibración consecutivas. a: intercepto; b: pendiente; R: coeficiente de correlación; SRE: error estándar residual de la regresión.

^c Los resultados se expresan como el coeficiente de variación de la raíz cuadrada de la suma de las varianzas dentro-del-día y día-a-día para cualquiera de los pools de suero.¹⁵

ciones del Programa Cubano, junto con el total de resultados calificados como satisfactorios. No hubo diferencias significativas en el comportamiento de los laboratorios que emplearon cualquiera de los tres

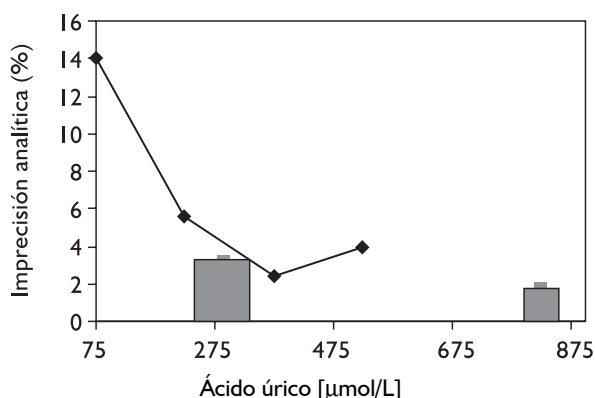


Figura 3. Estado de la imprecisión analítica de las aplicaciones HPLC de ácido úrico documentadas internacionalmente. Se revisó la literatura disponible sobre aplicaciones HPLC para ácido úrico en búsqueda de estimados de las varianzas analíticas dentro-del-día y día-a-día. La imprecisión total se calculó según la referencia 6. La línea continua representa el perfil de imprecisión construido a partir de los datos reunidos. Las barras representan la imprecisión total estimada para la aplicación HPLC de fase reversa descrita en este artículo.

métodos químicos. Emitieron resultados satisfactorios 53% de los laboratorios que emplearon la reacción del ácido fosfotúngstico (rango: 0 a 80%), 55% de los que usaron la versión manual de la reacción de la uricasa (0 a 100%) y 65% de los que usaron la versión automatizada de la reacción de la uricasa (0 a 100%). Cabe destacar que en seis análisis 100% de los laboratorios que usaron la versión manual de la reacción de la uricasa emitieron resultados satisfactorios. Similarmente, 100% de los laboratorios que emplearon la versión automatizada de la reacción de la uricasa informaron resultados satisfactorios en ocho análisis.

En la figura 5 se muestran los Perfiles de Desviación generados para cada método químico empleado en la determinación de ácido úrico. El intervalo tenido como aceptable para la desviación del resultado obtenido localmente respecto del valor-HPLC incluyó la mediana de los porcentajes de desviación en 15 emisiones con la reacción del ácido fosfotúngstico ($p < 0.01$). El método colorimétrico emitió el mayor número de valores aberrantes, con resultados tan extremos como +128.72% para 183.63 $\mu\text{mol/L}$ de ácido úrico y -84.82% para 349.25 $\mu\text{mol/L}$.

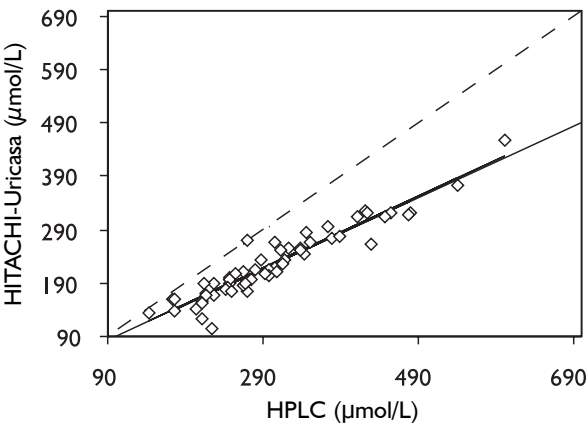


Figura 4A. Muestras clínicas frescas.

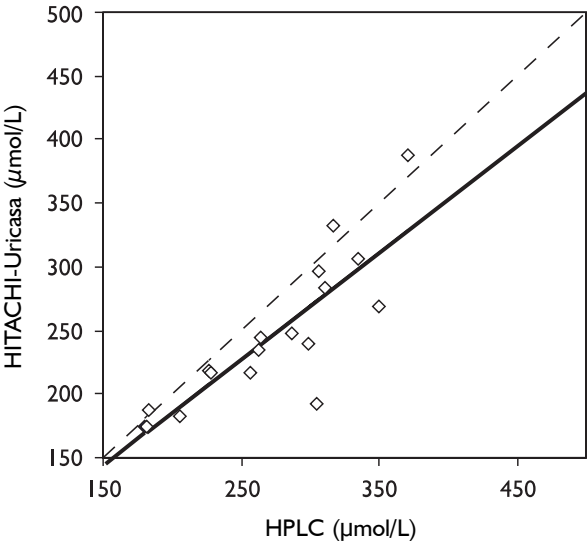


Figura 4B. Muestras de suficiencia del Programa Cubano.

La sustitución del método colorimétrico por uno enzimático/automatizado se tradujo en una reducción en la obtención de valores aberrantes. La mediana de los porcentajes de desviación quedó incluida dentro del intervalo permisible para la desviación en 13 emisiones ($p = 0.049$).

La versión manual de la reacción de la uricasa fue la del desempeño más pobre, al desviarse consistentemente del valor-HPLC: la mediana de los porcentajes de desviación quedó incluida dentro del intervalo permisible sólo en ocho análisis ($p = 0.760$). En ningún caso se demostró co-

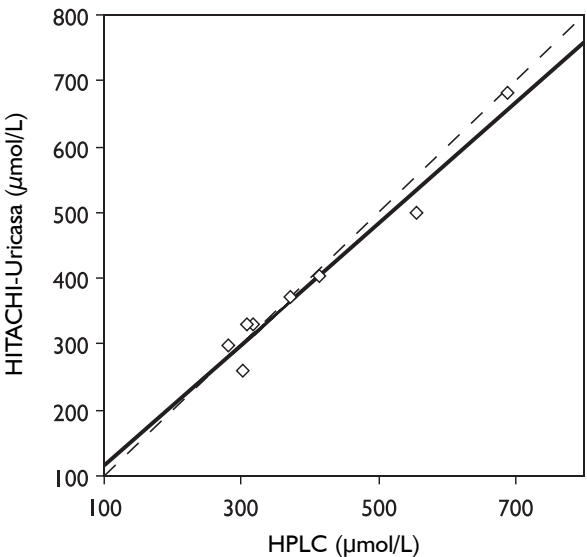


Figura 4C. Muestras de suficiencia del UK-EAQS.

Línea de puntos: línea de identidad.

Parámetro	A	B	C
Tamaño N	50	18	8
Intercepto a	23.25	16.98	23.47
Pendiente b	0.67	0.84	0.92
Coefficiente de Correlación r	0.95	0.85	0.98
Error estándar de la regresión SRE	14.91	23.58	19.41

Figura 4. Rectas de regresión estimadas de los estudios de comparación de la aplicación HPLC desarrollada con un método enzimático/espectrofotométrico instalado en un autoanalizador HITACHI 704 (Boehringer-Mannheim, Alemania).

rrelación significativa entre el valor-HPLC y la desviación analítica.

Discusión

La introducción de una aplicación HPLC de fase reversa para la determinación de ácido úrico en el Programa Cubano de Control Externo de la Calidad permitió demostrar que: 1) la reacción del ácido fosfotúngstico emitió el mayor número de valores aberrantes; 2) el empleo de la versión automatizada de la reacción de la uricasa significó una reducción del número de valores aberrantes;

Cuadro II. Contenido de ácido úrico en las muestras de suficiencia ensayadas por los participantes en 18 estudios sucesivos del Programa Cubano de Control Externo de la Calidad. Se presentan los valores obtenidos mediante la aplicación HPLC (como la Media $\pm$ Coeficiente de variación de cinco determinaciones replicadas) y los reportados por los participantes con cualquiera de los métodos químicos, expresados como la Media $\pm$ Coeficiente de variación, después de eliminar los que superaron las tres desviaciones estándar. También se exponen los resultados (entre paréntesis el porcentaje del subtotal reportado) calificados como satisfactorios respecto del valor-HPLC.

No. emisión	Valor-HPLC	Método químico empleado localmente		
		Acido fosfotúngstico	Uricasa manual	Uricasa automatizada
1	180.79 $\pm$ 2.23	200.87 $\pm$ 17.40 16 (62%)	197.92 $\pm$ 13.50 3 (75%)	181.50 $\pm$ 5.10 2 (100%)
2	183.63 $\pm$ 1.17	207.72 $\pm$ 19.60 15 (58%)	173.75 $\pm$ 4.90 3 (100%)	186.00 $\pm$ 5.70 3 (100%)
3	227.29 $\pm$ 3.83	236.21 $\pm$ 20.40 33 (69%)	240.76 $\pm$ 14.80 3 (75%)	222.67 $\pm$ 3.70 3 (100%)
4	227.40 $\pm$ 1.02	239.62 $\pm$ 23.20 34 (64%)	224.96 $\pm$ 13.50 5 (100%)	222.00 $\pm$ 4.80 3 (100%)
5	349.25 $\pm$ 0.47	271.94 $\pm$ 18.40 16 (30%)	238.80 $\pm$ 12.00 0 (0%)	268.10 $\pm$ 11.10 1 (20%)
6	256.36 $\pm$ 1.43	264.79 $\pm$ 16.70 35 (69%)	276.00 $\pm$ 2.00 2 (100%)	237.20 $\pm$ 8.80 5 (100%)
7	306.84 $\pm$ 0.77	288.35 $\pm$ 19.80 10 (67%)	271.00 1 (100%)	299.67 $\pm$ 9.50 3 (100%)
8	305.01 $\pm$ 1.41	280.29 $\pm$ 18.90 10 (53%)	239.50 0 (0%)	271.13 $\pm$ 12.60 2 (67%)
9	299.42 $\pm$ 1.00	268.39 $\pm$ 15.70 19 (63%)	307.00 $\pm$ 19.80 2 (100%)	264.78 $\pm$ 17.40 4 (67%)
10	370.77 $\pm$ 0.68	303.66 $\pm$ 24.40 16 (47%)	284.00 $\pm$ 12.00 1 (50%)	400.43 $\pm$ 11.20 4 (57%)
11	286.55 $\pm$ 0.16	274.22 $\pm$ 21.40 21 (62%)	258.50 $\pm$ 8.50 2 (100%)	287.33 $\pm$ 9.50 6 (100%)
12	316.56 $\pm$ 0.84	275.52 $\pm$ 17.40 24 (65%)	248.10 $\pm$ 32.70 1 (33%)	299.86 $\pm$ 22.50 4 (57%)
13	205.11 $\pm$ 1.64	217.93 $\pm$ 24.10 15 (60%)	178.50 $\pm$ 17.80 1 (50%)	205.00 $\pm$ 3.20 3 (100%)
14	262.51 $\pm$ 1.51	247.05 $\pm$ 20.20 26 (67%)	208.00 $\pm$ 15.00 1 (50%)	258.13 $\pm$ 16.60 5 (63%)
15	311.07 $\pm$ 2.58	305.87 $\pm$ 13.50 32 (80%)	259.67 $\pm$ 9.20 2 (67%)	302.00 $\pm$ 21.50 3 (50%)
16	334.55 $\pm$ 0.88	198.55 $\pm$ 16.60 0 (0%)	195.67 $\pm$ 20.30 0 (0%)	243.00 $\pm$ 23.00 2 (40%)
17	263.47 $\pm$ 0.23	283.01 $\pm$ 25.50 20 (47%)	282.80 $\pm$ 29.90 2 (40%)	284.20 $\pm$ 19.60 1 (20%)
18	181.05 $\pm$ 3.03	245.04 $\pm$ 24.70 8 (19%)	297.30 $\pm$ 23.00 0 (0%)	247.00 $\pm$ 3.70 0 (0%)
Participaciones		660	53	83
Resultados satisfactorios		350 (53%)	29 (55%)	54 (65%)

3) la versión manual de la reacción de la uricasa se desvió consistentemente del valor-HPLC; 4) la sustitución del método colorimétrico por el enzimático/automatizado sólo introdujo mejoras mar-

ginales en el estado del arte de la determinación de ácido úrico.

El estado del rendimiento del método colorimétrico para la cuantificación del ácido úrico pue-

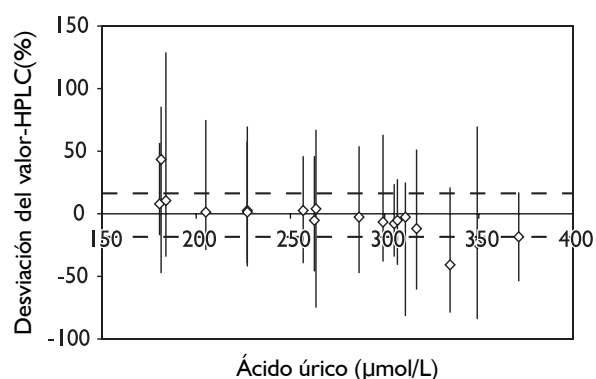


Figura 5A. Reacción del ácido fosfotúngstico.

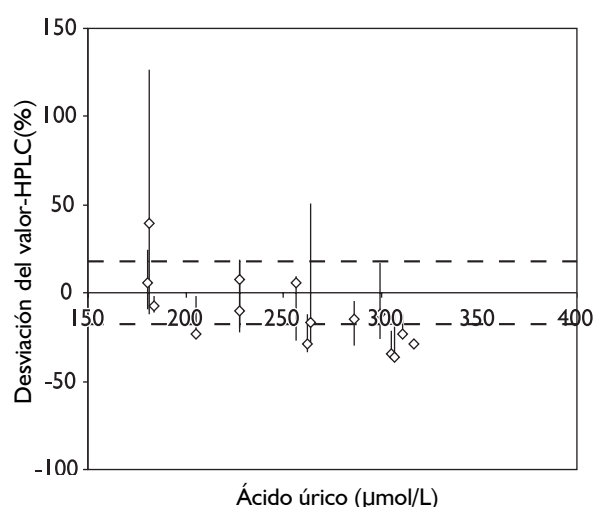


Figura 5B. Versión manual de la reacción de la uricasa.

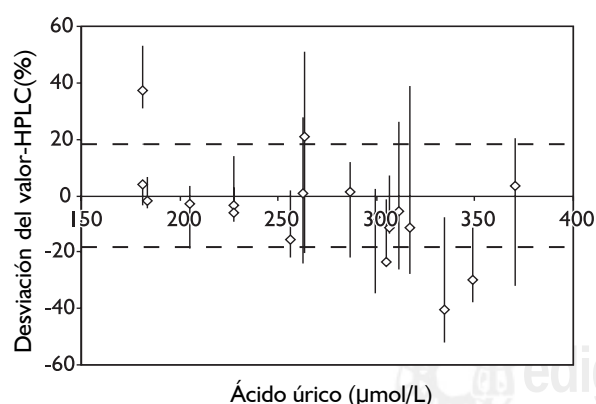


Figura 5C. Versión automatizada de la reacción de la uricasa.

Figura 5. Perfiles de desviación de los resultados reportados. Línea de puntos: intervalo permisible para la desviación respecto del valor-HPLC.

de representar, probablemente, un método químico agotado en sus capacidades analíticas. Resultados similares se obtuvieron cuando se introdujo en el Programa Cubano una aplicación HPLC de apareamiento iónico para la determinación de creatinina.¹ El paso de desproteínización, con el que se intenta remover las proteínas plasmáticas, y así mejorar la especificidad de la reacción química, puede ser responsable de introducir una fuente de imprecisión analítica. Más evidencias para sostener este argumento provinieron de la observación de que los laboratorios que utilizaron la reacción de la uricasa (manual o automatizada) reportaron un menor número de resultados aberrantes.

Sin embargo, el uso de un método químico más específico no resultó en un rendimiento mejorado. Los laboratorios que utilizaron cualquiera de las versiones de la reacción de la uricasa reportaron resultados desviados respecto del valor-HPLC. Ello ocurrió en 10 análisis con la versión manual y en cinco con la versión automatizada. Además, la tasa de resultados satisfactorios con el método enzimático no fue significativamente diferente de la del método colorimétrico.

Serán necesarias investigaciones posteriores para explorar las causas del comportamiento de este grupo de laboratorios. Una explicación plausible podría ser la naturaleza del sistema indicador acoplado a la reacción enzimática. Un estudio anterior reveló diferencias significativas entre los usuarios de la reacción de la uricasa debido a la heterogeneidad del sistema indicador.¹² Este hecho fue también documentado por el fabricante del juego de reactivos empleado en Cuba para la cuantificación enzimática de este analito,¹⁰ tal como se explicó en la sección de Material y métodos. No se deben excluir otros factores causantes del fallo del método enzimático de determinación de ácido úrico, como por ejemplo, fallos en la conducción de los protocolos de ensayo definidos localmente.

Conclusiones

Al igual que en el caso de la creatinina, ninguno de los métodos químicos para la determinación de ácido úrico demostró ser superior en su rendimiento a los otros: mientras que los usuarios del método colorimétrico reportaron un gran número de resultados aberrantes, los que usaron un método enzimático se desviaron significativamente del valor-HPLC. Este escenario justifica el desarrollo y la introducción de aplicaciones HPLC para analitos de química clínica en el Programa Cubano. Una vez validadas, las aplicaciones HPLC pueden emplearse como un "Método de referencia" para producir valores-diana del analito en las muestras de suficiencia que ensayarán los participantes, a fin de evaluar el estado del rendimiento de los métodos químicos actualmente en uso en Cuba.

Agradecimientos

218

Para Idania Hernández Oramas y Javier Canal Reyes, por su asistencia técnica, Celso Cruz Rodríguez, por sus útiles comentarios y sugerencias y Wolfgang Bablok (Boehringer-Mannheim, Alemania), por suministrar el programa de computación utilizado en los estudios de comparación de métodos.

Referencias

1. Santana PS, Muñiz VL, Larramendis CJ, Melián CJ, Suardíaz PJ. HPLC en un esquema de control externo de la calidad en la determinación de creatinina. *Laborat-Acta* 1998; 10: 119-125.
2. Wung WE, Howell SB. Simultaneous liquid chromatograph of 5-fluorouracil, uridine, hypoxanthine, xanthine, uric acid, and oxipurinol in plasma. *Clin Chem* 1980; 26: 1704-8.
3. Licea MV, Badia M, Gayoso I y cols. *Conservación de soluciones de referencia de ácido úrico*. En: *Resúmenes del X Congreso Latinoamericano de Bioquímica Clínica*. República Dominicana: 1991: 87.
4. Sakuma R, Nishina T, Kitamura M. Deproteinizing methods evaluated for determination of Uric acid in serum by reversed-phase liquid chromatography with ultraviolet detection. *Clin Chem* 1987; 33: 1427-1430.
5. MacTaggart DL, Farwell SO. Analytical use of linear regression. Part I: Regression procedures for calibration and quantitation. *J AOAC Int* 1992; 75: 594-608.
6. Bookbinder MJ, Panosian KJ. Correct and incorrect estimation of within-day and between-day variation. *Clin Chem* 1986; 32: 1734-1737.
7. Regression Program for Method Comparison Calculation. User Manual for RegMcc. Versión 1.1. Evaluation Laboratory Systems, DP & Biometry. Alemania: Boehringer-Mannheim Diagnostica: 1993.
8. Suero Control Externo. Registro Estatal Número D9406-18. La Habana: Centro de Control de Calidad de los Medicamentos, 1994.
9. Whitehead TP. *Quality Control in Clinical Chemistry*. New York, USA: John Wiley and Sons, 1977.
10. Precipath U. *Control Sera Information Sheet*. Alemania: Boehringer-Mannheim GmbH, 1991.
11. Grupo Nacional de Laboratorios Clínicos. Ministerio de Salud Pública. *Dosificación de ácido úrico. Manual de técnicas para Laboratorios Clínicos*. La Habana: Editorial Ciencia y Técnica, Instituto del Libro, 1968: 34.
12. Geisinger KR, Batsakis JG, Bauer RC. Serum Uric acid. *Am J Clin Pathol* 1979; 72: 330-6.