

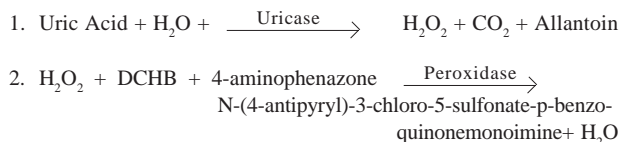


Stanbio Uric Acid LiquiColor® Procedure No. 1045

Quantitative Enzymatic Colorimetric Determination
of Uric Acid in Serum, Plasma or Urine

Summary and Principle^{1,2}

Uricase acts upon uric acid to form hydrogen peroxide and allantoin. The H₂O₂ is measured quantitatively by its reaction with 3,5-dichloro-2-hydroxybenzenesulfonic acid (DCHB), in the presence of peroxidase and 4-aminophenazone, to form a red violet quinoneimine complex. Lipid Clearing Factor (LCF): a mixture of special additives developed by Stanbio is integrated into the uric acid reagent to help minimize interference due to lipemia.



Reagents

Enzymatic Uric Acid Reagent (Liquid), Ref. No. 1046

Phosphate buffer, pH 7.0	50 mmol/L
3,5-Dichloro-2-hydroxybenzenesulfonic acid	4 mmol/L
4-Aminophenazone	0.3 mmol/L
Peroxidase	> 1000 U/L
Uricase	> 200 U/L

Stabilizers and activators in a buffered solution.

Enzymatic Uric Acid Standard, 8 mg/dL, Ref. No. 1044

Aqueous solution of uric acid with solubilizer and stabilizer added.

Precautions: *For In Vitro Diagnostic Use.* Dispose of reagents in accordance with local requirements.

Reagent Preparation: Reagent and standard are ready for use.

Reagent Storage and Stability: Reagent is stable, stored at 2-8°C, until expiration date on label. Once opened, contamination must be avoided. Standard is stable until expiration date on label when stored at 2-8°C. DO NOT FREEZE. Bring reagent to room temperature before use.

Note: To prevent contamination of enzymatic reagent, pour into a separate vessel a volume slightly in excess of that required. Do not return unused portion to bottle.

Materials Required But Not Provided

Spectrophotometer, capable of absorbance readings at 520 nm.
Cuvets, 10 or 12 x 75 mm
Heat block/bath, 37°C (optional)
Accurate pipetting devices

Specimen Collection and Preparation

Serum, or plasma from heparinized or EDTA blood, is recommended. Urine is diluted 1:10 (1 + 9) with distilled water.

Sample Stability: Uric acid in serum, plasma and urine is reported stable for 2-3 days at room temperature, 3-7 days at 2-8°C and for 6-12 months when frozen.

Interfering Substances: Hemoglobin levels greater than 100 mg/dL, and bilirubin greater than 20mg/dL, will affect results. Refer to Young et al.⁵ for a listing of other interfering substances.

Automated Analyzer

Parameters:

Wavelength	520 nm
Reaction Type	Endpoint
Reaction Direction	Increasing
Reaction Temperature	37°C
Sample/Reagent Ratio	1:50
Equilibration Time	3 Seconds
Read Time	4 Seconds
Lag Time	300 seconds
Blank Absorbance Limit	0.090A
High Absorbance	0.700A
Standard	8.0 mg/dL
Low Normal	2.4 mg/dL
High Normal	7.0 mg/dL
Linearity	20.0 mg/dL

Manual Procedure

1. Pipet into cuvetts the following volumes (ml) and mix well:

	Reagent Blank (RB)	Standard (S)	Sample (U)
Reagent	1.0	1.0	1.0
Standard	—	0.02	—
Sample	—	—	0.02

Note: For instruments requiring volumes greater than 1.0 mL, use 2.0 mL reagent and 0.05 mL standard and sample.

2. Incubate all cuvetts at 37°C for 5 minutes and allow to cool, or incubate at room temperature for 15 minutes.

3. Read S and U vs. RB at 520 nm within 15 minutes.

Quality Control: Two levels of control material with known Uric Acid levels determined by this method should be analyzed each day of testing.

Results

Values are derived by the following equations: $\frac{Au}{As}$

$$\text{Serum or Plasma Uric Acid (mg/dL)} = \frac{Au}{As} \times 8$$

$$\text{Urine Uric Acid (mg/dL)} = \frac{Au}{As} \times 80$$

where Au and As are the absorbance values of UNKNOWN and STANDARD, respectively, 8 is the concentration of the standard (mg/dL) and the factor of 80 combines the same standard concentration with the required urine dilution factor of 10.

Expected Values^{3,4}

Normal Range:

Men 3.4 – 7.0 mg/dL

Women 2.4 – 5.7 mg/dL

Urine: 0.5 – 1.0 gram/day

(dependent on diet contents of purines)

Performance Characteristics⁶

Reproducibility: A study was performed on a normal control serum (mean = 4.5 mg/dL) and on an abnormal control (mean = 8.6 mg/dL), which entailed a series of 5 assays on each of 5 days. Coefficients of variation (CV) were within run 2.8% and 1.6% and between runs 3.4% and 3.8%, respectively.

Correlation: Determination of uric acid by the procedure described (y) and by the acetaldehyde dehydrogenase-UV reference method (x) on 49 sera (range 2.5-11.4 mg/dL) showed a correlation coefficient (r) of .982 and a regression equation of y = 1.001x + 0.4.

Linearity: When performed as directed the method is linear from 0 to 20 mg/dL.

References

- Barham D. Trinder p: analyst 97:142, 1972.
- Fossati P et al: Clin Chem 26:227, 1980.
- Thefeld L et al: Dtsch med Wschr 98:380, 1973.
- Haisman P, Muller BR: Glossary of Clinical Chemistry Terms. Butterworth, London, 1977, p126.
- Young DS et al. Clin Chem 21:246D, 1975 (Special Issue).
- Stanbio Laboratory data.

Manufactured By:

Stanbio Laboratory • 1261 North Main Street • Boerne, Texas 78006 USA
Ph: (830) 249-0772 • Fax (830) 249-0851 • e-mail: stanbio@stanbio.com
http://www.stanbio.com
DN: RBR.1045CE.01 • Last Revision: 01/04 • Procedure No. 1045



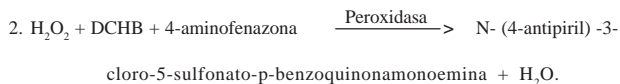
Stanbio LiquiColor® Acido Urico-PAP Proced. No. 1045

Para la determinación cuantitativa enzimática colorimétrica de Acido Urico en suero, plasma ó orina.

Resúmen y Principio^{1,2}

La Uricasa actúa sobre el ácido úrico para formar peróxido de hidrógeno y alantoina. El H₂O₂ se mide cuantitativamente por su reacción con el ácido 3,5-dicloro-2-hidroxibencensulfónico (DCHB), en presencia de peroxidasa y 4-amino fenazona, para formar un complejo quinonaimina de color rojo violeta.

El Factor Aclarador Lipemico (LCF) es una mezcla de aditivos especialmente diseñados por Stanbio integrados dentro del reactivo de colesterol para ayudar a minimizar las interferencias debidas a la Lipemia.



Reactivos

Acido Urico Enzimático (liquido). Ref. No. 1046

Composición:	
Buffer de fosfatos, pH 7.0	50 mmol/L
Acido 3,5-dicloro-2-hidroxibencensulfónico	4 mmol/L
4-aminofenazona	0.3 mmol/L
Peroxidasa	>1000 U/L
Uricasa	>200 U/L
Estabilizadores y activadores	

Estandar de Acido Urico. (8 mg/dL). Ref. No. 1044

Solución acuosa de ácido úrico, con estabilizadores y solubilizadores.

Precauciones: Para uso de diagnóstico in vitro.

Preparación del Reactivo: El reactivo y el estandar están listo para usarse.

Estabilidad y Almacenamiento del Reactivo: El reactivo de ácido úrico y el estandar son estables hasta sus fecha de caducidades, almacenados a 2-8°C. Una vez abierto, evite su contaminación. Con el tiempo el reactivo puede tomar un leve color rosado que no afecta los resultados. Ponga el reactivo y el estandar a temperatura ambiente antes de usarlos.

Materiales Requeridos Pero No Incluido

Espectrofotómetro para leer absorbancias de 520 nm.
Celdillas de 10 ó 12 x 75 mm
Baño de temperatura constante de 37°C o portacubeta de temperatura controlada.
Aditamentos de pipeteadores exacto

Recolección y Preparación de la Muestra¹

El suero es la muestra de preferencia y debe separarse rápido de la formación del coágulo. Puede usarse plasma de EDTA o heparina.

Para diluir 10 veces (1 volumen de orina + 9 de agua destilada), la orina así diluída se analiza y el resultado se multiplica por el factor de dilución 10. Consulte la sección de resultados.

Estabilidad de la Muestra¹: El ácido úrico del suero, plasma u orina se reporta estable por 2-3 días a temperatura ambiente, de 3-7 días a 2-8°C, de

6-12 meses cuando se congela. La orina debe refrigerarse para evitar el crecimiento bacteriano.

Substancias Interferentes: Debe evitarse la hemólisis en el suero o en el plasma, así como la presencia de sangre en la orina. Young et al.⁵ da una lista de agentes que interfieren con la determinación del ácido úrico.

Analizador Automatizado

Parámetros:

Longitud de onda	520 nm
Tipo de reacción	Punto final
Dirección de reacción	Creciente
Temperatura de reacción	37°C
Relación muestra/reactivo	1:50
Tiempo de equilibrio	3 segundos
Tiempo de lectura	4 segundos
Tiempo de incubar	300 segundos
Límite de absorbancia del blanco	0.090 A
Máxima absorbancia	0.700 A
Valor normal bajo	2.4 mg/dL
Valor normal alto	7.0 mg/dL
Estandar	8.0 mg/dL
Linealidad	20 mg/dL

Estos parámetros deben considerarse al programar el analizador automático de Acido Urico. Consulte el manual del instrumento para instrucciones de programación.

Procedimiento Manual

1. Pipetar en celdillas los siguientes volúmenes (mL) y mezcle bien.

	Reactivo Blanco (RB)	Estandar (S)	Muestra (U)
Reactivo	1.0	1.0	1.0
Estandar	—	0.02	—
Muestra	—	—	0.02

NOTA: Los volúmenes pueden incrementarse proporcionalmente si el espectrofotómetro requiere de más de 1.0 mL.

2. Incube todas las celdillas a 37°C por 5 minutos y deje enfriar o incube a temperatura ambiente por 15 minutos.

3. Lea S y U contra RB a 520 nm antes de 15 minutos.

Control de Calidad: En suero normal y uno anormal con niveles de ácido úrico determinados por este método deberán incluirse con cada serie de ensayos.

Resultados

Los resultados se obtienen por la siguiente ecuación:

$$\text{Acido Úrico de suero o plasma (mg/dL)} = \frac{A_u}{A_s} \times 8$$

donde Au y As son los valores de absorbancia de la muestra y del estandar respectivamente y 10 es la concentración del estandar (mg/dL).

Acido Úrico en orina (mg/24h) =

$$\frac{\text{Acido Úrico (mg/dL)} \times \text{volumen de orina de 24 hrs. (mL)} \times 10}{100}$$

donde "100" resulta de convertir mg/dL a mg/mL y "10" es el factor de dilución de la orina usada.

NOTA: Las muestras con valores de ácido úrico mayores a 20 mg/dL deben diluirse 3 veces (1+2) con solución salina normal (cloruro de sodio 8.5 g/L). El análisis se repite y el resultado se multiplica por 3.

Valores Esperados^{3,4}

Rangos Normales	Hombres	3.4-7.0 mg/dL
	Mujeres	2.4-5.7 mg/dL
Orina		0.50-1.00 g/24h (Dependiente del contenido de purinas en la dieta)

Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propias variaciones, ya que existen diferencias en los instrumentos, laboratorios, y en la población local.

Características⁶

Reproducibilidad: Se realizó un estudio con suero control normal (media = 4.5 mg/dL) y con un control anormal (media = 8.6 mg/dL) los cuales fueron ensayados 5 veces en 5 días consecutivos. El coeficiente de variación (CV) intraensayo fue de 2.8% y 1.6% y el in interensayo de 3.4% y 3.8% respectivamente.

Correlación: La determinación de ácido úrico por el procedimiento aquí descrito (y) y por el de referencia acetaldehído deshidrogenasa-UV (x) en 49 sueros (rango 2.5-11.4 mg/dL) mostraron un coeficiente de correlación (r) de 0.982 y una pendiente de y = 1.001 x + 0.4.

Linealidad: Este método tal como se describe es lineal de 0 a 20 mg/dL.

Referencias

- Barham D. Trinder p: Analyst 97:142, 1972.
- Fossati P et al: Clin Chem 26:227, 1980.
- Thefeld L et al: Dtsch med Wschr 98:380, 1973.
- Haisman P. Muller BR: Glossary of Clinical Chemistry Terms.
- Young DS et al. Clin Chem 21:246D, 1975 (Special Issue).
- Stanbio Laboratory data.

Fabricado Por:

Stanbio Laboratory • 1261 North Main Street • Boerne, Texas 78006 USA
Ph: (830) 249-0772 • Fax (830) 249-0851 • e-mail: stanbio@stanbio.com
http://www.stanbio.com

DN: RBR.1045CE.01 • Última Revisión: 01/04 • Procedimiento No. 1045