

# Uric acid

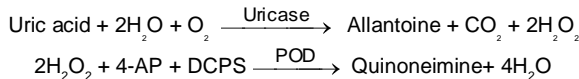
Uricase -POD. Enzymatic colorimetric

## Quantitative determination of uric acid IVD

Store at 2-8°C

### PRINCIPLE OF THE METHOD

Uric acid is oxidized by uricase to allantoin and hydrogen peroxide (2H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), which under the influence of POD, 4-aminophenazone (4-AP) and 2-4 Dichlorophenol sulfonate (DCPS) forms a red quinoneimine compound:



The intensity of the red color formed is proportional to the uric acid concentration in the sample<sup>1,2</sup>.

### CLINICAL SIGNIFICANCE

Uric acid and its salts are end products of the purine metabolism. With progressive renal insufficiency, there is retention in blood of urea, creatinine and uric acid.

Elevate uric acid level may be indicative of renal insufficiency and is commonly associated with gout<sup>1,5,6</sup>.

Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

### REAGENTS

<b>R 1</b>	Phosphate pH 7.4	50 mmol/L
Buffer	2-4 Dichlorophenol sulfonate (DCPS)	4 mmol/L
<b>R 2</b>	Uricase	60 U/L
Enzymes	Peroxidase (POD)	660 U/L
	Ascorbate oxidase	200 U/L
	4 - Aminophenazone (4-AP)	1 mmol/L
<b>URIC ACID CAL</b>	Uric acid aqueous primary standard	6 mg/dL

### PREPARATION

Working reagent (WR): Dissolve (→) the contents of one vial R 2 Enzymes in one bottle R 1 Buffer. Cap and mix gently to dissolve contents. (WR) is stable after reconstitution 1 month at 2-8°C or 10 days at room temperature.

### STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C, protected from light and contaminations prevented during their use.

Do not use reagents over the expiration date.

### Signs of reagent deterioration:

- Presence of particles and turbidity.
- Blank absorbance (A) at 520 nm ≥ 0.16.

### ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spectrophotometer or colorimeter measuring at 520 nm.
- Matched cuvettes 1.0 cm light path.
- General laboratory equipment.

### SAMPLES

- Serum or plasma<sup>1</sup>: Stability 3-5 days at 2-8°C or 6 months at -20°C.
- Urine (24 h)<sup>1</sup>: Stability 4 days at 15-25°C, pH >8. Dilute sample 1/50 in distilled water. Mix. Multiply results by 50 (dilution factor); If urine is cloudy; warm the specimen to 60°C for 10 min to dissolve precipitated urates and uric acid. Do not refrigerate.

### PROCEDURE

- Assay conditions:  
Wavelength: ..... 520 nm (490-550)  
Cuvette: ..... 1 cm light path  
Temperature: ..... 37°C / 15-25°C
- Adjust the instrument to zero with distilled water.
- Pipette into a cuvette:

	Blank	Standard	Sample
WR (mL)	1.0	1.0	1.0
Standard <sup>(Note 1-2)</sup> (μL)	--	25	--
Sample (μL)	--	--	25

- Mix and incubate for 5 min at 37°C or 10 min at 15-25°C.
- Read the absorbance (A) of the samples and Standard, against the Blank. The colour is stable for at least 30 minutes.

### CALCULATIONS

Serum or plasma

$$\frac{(A) \text{ Sample}}{(A) \text{ Standard}} \times 6 \text{ (Standard conc.)} = \text{mg/dL uric acid in the sample}$$

Urine 24 h

$$\frac{(A) \text{ Sample}}{(A) \text{ Standard}} \times 6 \times \text{vol. (dL) urine 24 h} = \text{mg/24 h uric acid}$$

**Conversion factor:** mg/dL x 59.5= μmol/L.

### QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures: SPINROL H Normal and Pathologic (Ref. 1002120 and 1002210).

If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and calibrator for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

### REFERENCE VALUES<sup>5</sup>

Serum or plasma:

Women 2.5 - 6.8 mg/dL ≅ 149 - 405 μmol/L

Men 3.6 - 7.7 mg/dL ≅ 214 - 458 μmol/L

Urine: 250 - 750 mg/24 h ≅ 1.49 - 4.5 mmol/24 h

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

### PERFORMANCE CHARACTERISTICS

**Measuring range:** From detection limit of 0.03 mg/dL to linearity limit of 25 mg/dL.

If the results obtained were greater than linearity limit, dilute the sample 1/2 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 2.

### Precision:

	Intra-assay (n=20)		Inter-assay (n=20)	
Mean (mg/L)	4.74	11.4	4.72	11.2
SD	0.03	0.06	0.07	0.15
CV (%)	0.63	0.56	1.58	1.36

**Sensitivity:** 1 mg/dL = 0.0347 A.

**Accuracy:** Results obtained using SPINREACT reagents (y) did not show systematic differences when compared with other commercial reagents (x).

The results obtained using 50 samples were the following:

Correlation coefficient (r): 0.99.

Regression equation: y=1.005x + 0.0005.

The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

### INTERFERENCES

No interferences were observed to bilirubin up to 170 μmol/L, hemoglobin up to 130 mg/dL and ascorbic acid up to 570 μmol/L<sup>2</sup>.

A list of drugs and other interfering substances with uric acid determination has been reported by Young et. al<sup>3,4</sup>.

### NOTES

- URIC ACID CAL: Proceed carefully with this product because due its nature it can get contaminated easily.
- Calibration with the aqueous standard may cause a systematic error in automatic procedures. In these cases, it is recommended to use a serum Calibrator.
- Use clean disposable pipette tips for its dispensation.
- SPINREACT has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.**

### BIBLIOGRAPHY

- Schultz A. Uric acid. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1261-1266 and 418.
- Fossati P et al. Clin Chem 1980;26:227-231.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

### PACKAGING

Ref: 1001010	Cont.	R1, R2 (Lyo.): 10 x 20 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001011		R1, R2 (Lyo.): 10 x 50 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001012		R1, R2 (Lyo.): 4 x 125 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001013		R1, R2 (Lyo.): 4 x 250 mL, CAL: 1 x 5 mL



# Ácido úrico

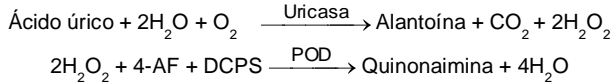
Uricasa -POD. Enzimático colorimétrico

## Determinación cuantitativa de ácido úrico IVD

Conservar a 2-8°C

### PRINCIPIO DEL MÉTODO

El ácido úrico es oxidado por la uricasa a alantoína y peróxido de hidrógeno (2H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) que en presencia de peroxidasa (POD), 4-aminofenazona (4-AF) y 2-4 Diclorofenol Sulfonato (DCPS) forma un compuesto rosáceo:



La intensidad de quinonaimina roja formada es proporcional a la concentración de ácido úrico presente en la muestra ensayada<sup>1,2</sup>.

### SIGNIFICADO CLÍNICO

El ácido úrico y sus sales son el producto final del metabolismo de las purinas. En una insuficiencia renal progresiva hay una retención en sangre de urea, creatinina y ácido úrico.

Niveles altos de ácido úrico son indicativos de patología renal y generalmente se asocia con la gota<sup>1,5,6</sup>.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

### REACTIVOS

<b>R 1</b>	Fosfatos pH 7,4	50 mmol/L
Tampón	2-4 Diclorofenol Sulfonato (DCPS)	4 mmol/L
<b>R 2</b>	Uricasa	60 U/L
Enzimas	Peroxidasa (POD)	660 U/L
	Ascorbato oxidasa	200 U/L
	4 - Aminofenazona (4-AF)	1 mmol/L
<b>URIC ACID CAL</b>	Patrón primario acuoso de Ácido úrico	6 mg/dL

### PREPARACIÓN

Reactivo de trabajo (RT): Disolver (→) el contenido de un vial de R 2 Enzimas en un frasco de R 1 Tampón. Tapar y mezclar suavemente hasta disolver su contenido. Estabilidad: 1 mes en nevera (2-8°C) o 10 días a temperatura ambiente.

### CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

### Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia (A) del Blanco a 520 nm ≥ 0,16.

### MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 520 nm.
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

### MUESTRAS

- Suero o plasma<sup>1</sup>: Estabilidad 3-5 días a 2-8°C y 6 meses a -20°C.
- Orina (24 h)<sup>1</sup>: Estabilidad 3 días a temperatura ambiente a pH > 8. Diluir la muestra al 1/50 en agua destilada. Mezclar. Multiplicar el resultado obtenido por 50 (factor de dilución); Si la muestra es turbia, calentarla a 60°C 10 min para disolver los precipitados de urato y ácido úrico. No refrigerar.

### PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:  
 Longitud de onda: ..... 520 nm (490-550)  
 Cubeta: ..... 1 cm paso de luz  
 Temperatura: ..... 37°C / 15-25°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
RT (mL)	1,0	1,0	1,0
Patrón (Nota1-2) (µL)	--	25	--
Muestra (µL)	--	--	25

- Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C ó 10 min. 15-25°C.

- Leer la absorbancia (A) del Patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 30 minutos.

### CÁLCULOS

Suero o plasma

$$\frac{(A) \text{ Muestra}}{(A) \text{ Patrón}} \times 6 (\text{Conc. Patrón}) = \text{mg/dL de ácido úrico en la muestra}$$

Orina 24 h

$$\frac{(A) \text{ Muestra}}{(A) \text{ Patrón}} \times 6 \times \text{vol. (dL) orina/24h} = \text{mg/24 h de ácido úrico}$$

**Factor de conversión:** mg/dL x 59,5= µmol/L.

### CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados: SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

### VALORES DE REFERENCIA<sup>5</sup>

Suero o plasma:

Mujeres 2,5 - 6,8 mg/dL ≅ 149 - 405 µmol/L

Hombres 3,6 - 7,7 mg/dL ≅ 214 - 458 µmol/L

Orina: 250 - 750 mg/24 h ≅ 1,49 - 4,5 mmol/24 h

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

### CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

**Rango de medida:** Desde el límite de detección de 0,03 mg/dL hasta el límite de linealidad de 25 mg/dL.

Si la concentración es superior al límite de linealidad, diluir la muestra 1/2 con ClNa 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

### Precisión:

	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
Media (mg/L)	4,74	11,4	4,72	11,2
SD	0,03	0,06	0,07	0,15
CV (%)	0,63	0,56	1,58	1,36

**Sensibilidad analítica:** 1 mg/dL = 0,0347 A.

**Exactitud:** Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r): 0,99.

Ecuación de la recta de regresión: y=1,005x + 0,0005.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

### INTERFERENCIAS

No se han observado interferencias con bilirrubina hasta 170 µmol/L, hemoglobina hasta 130 mg/dL y ácido ascórbico hasta 570 µmol/L<sup>2</sup>.

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación del ácido úrico<sup>3,4</sup>.

### NOTAS

- URIC ACID CAL: Debido a la naturaleza del producto, es aconsejable tratarlo con sumo cuidado ya que se puede contaminar con facilidad.
- La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
- Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.**

### BIBLIOGRAFÍA

- Schultz A. Uric acid. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1261-1266 and 418.
- Fossati P et al. Clin Chem 1980;26:227-231.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

### PRESENTACIÓN

Ref: 1001010	Cont.	R1, R2 (Lio.):10 x 20 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001011		R1, R2 (Lio.):10 x 50 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001012		R1, R2 (Lio.):4 x 125 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001013		R1, R2 (Lio.):4 x 250 mL, CAL: 1 x 5 mL

