



ASSEL S.r.l.
Via E. Barsanti 13/A - 00012 Guidonia (Rm)
Tel.: +39 0774 357492
Fax: +39 0774 372179
e-mail: info@asselitaly.eu



ACIDO URICO SL
Metodo colorimetrico enzimatico (Uricasi-POD)
Prodotto conforme alla direttiva 98/79 CE
000271 Rev. 7 del 04/02/2010

| | | |
|------------|------------------|-----------------------------|
| REF | ASR01012 | 4x80 + 1x80 ml + STD |
| | ASR01013 | 2x80 + 1x40 ml + STD |
| | ASKIT0102 | 6x16 + 6x4 ml |

• Principio di reazione

L'Acido urico viene ossidato, ad opera dell'uricasi ad allantoina con formazione di perossido di idrogeno.

Il perossido di idrogeno liberato reagisce in presenza di perossidasi (POD) con opportuno colorante* e 4-aminoantipirina formando un composto di colore rosso la cui intensità risulta direttamente proporzionale alla quantità di acido urico presente nel siero.

*= acido 3-idrossi-2,4,6-triiodobenzoico

• Campione

Siero (non emolizzato), plasma con eparina o EDTA e urina.

L'acido urico nel siero è stabile per 3 giorni a T.A. e fino a 6 mesi in congelatore a -20°C.

Diluire l'urina 1:10 con soluzione fisiologica.

Se il campione di urina si presenta torbido, riscaldarlo per 10' in bagnomaria a +60°C, quindi centrifugare e diluire.

Agitare e portare i campioni a temperatura ambiente prima dell'uso.

• Valori di riferimento

| SIERO - PLASMA | | Uomo | 3.4 - 7.0 mg/dl | 202.3 - 416.5 µmol/l |
|----------------|-------|-----------------|----------------------|----------------------|
| | Donna | 2.4 - 5.7 mg/dl | 142.8 - 339.2 µmol/l | |
| URINA | | | 200 - 1000 mg/24h | 1200 - 5900 µmol/24h |

I valori sopra riportati devono considerarsi indicativi, in quanto si consiglia ad ogni laboratorio di stabilire l'intervallo di riferimento in relazione alla propria area geografica.

• Composizione della confezione ed eventuale classificazione di pericolo

| | |
|---------------------|-------------|
| REATTIVO (A) | |
| Tampone | 100 mmol/l |
| Colorante | 1.10 mmol/l |
| REATTIVO (B) | |
| Ferrocianuro di K | 50 µmol/l |
| 4-AAP | 0.37 mmol/l |
| Uricasi | ≥ 140 U/l |
| Perossidasi | ≥ 1500 U/l |
| STANDARD (C) | |
| Acido urico | 6 mg/dl |

Il kit non contiene sostanze o preparati classificati pericolosi in base alla legislazione attualmente vigente.

• Stabilità e conservazione dei reattivi

Conservare a 2 - 8°C. Stabile fino alla data di scadenza riportata sulla confezione.

Dopo l'apertura, si consiglia di richiudere immediatamente il Reattivo dopo il prelievo, di evitare contaminazione batterica, luce diretta, evaporazione e di conservarlo alla temperatura indicata.

• Preparazione e stabilità del reattivo di lavoro

Reattivi liquidi da portare a T.A. (15 - 25°C.) prima del loro utilizzo.

Il Reattivo (A) si presenta limpido e incolore, il Reattivo (B) è limpido e di colore giallo chiaro.

Procedura bireattivo:

I reattivi sono pronti all'uso.

Procedura monoreattivo:

Aggiungere una parte di Reattivo (B) a 4 parti di reattivo (A).

NOTA: Proteggere il Reattivo (A+B) dalla luce.

Stabilità del Reattivo (A+B): 7 giorni a T.A. (15 - 25°C) al buio, e 2 settimana in frigo (2 - 8°C).

• Precauzioni e avvertenze

Ogni qualvolta si manipolano agenti infettanti, reagenti chimici, reagenti di origine umana od animale, sangue o altri liquidi biologici, è consigliabile seguire le più comuni raccomandazioni e prendere tutte le necessarie precauzioni igieniche come l'utilizzazione di guanti monouso.

• Smaltimento

Applicare le norme di cui al D.Leg.vo 22/97 e successive modificazioni (Rifiuti Speciali e Speciali Pericolosi con relativo codice CER).

• Metodica operativa

Lunghezza d'onda 510nm (500-550)
Cammino ottico 1 cm
Temperatura +25/30/37°C
Lettura Contro bianco reattivo
Reazione End Point
Campione/Reattivo: 1/40 - 1/50

Procedura Bireattivo:

| Pipettare nelle provette: | BIANCO | CAMPIONE | STANDARD |
|---------------------------|---------|----------|----------|
| Reattivo (A) | 1000 µl | 1000 µl | 1000 µl |
| Acqua distillata | 25 µl | | |
| Campione | | 25 µl | |
| Standard | | | 25 µl |

Agitare e incubare per 1 minuto.

| Reattivo (A) | 250 µl | 250 µl | 250 µl |
|--------------|--------|--------|--------|
|--------------|--------|--------|--------|

Agitare, incubare per 5' a 37°C. o 10' a temperatura ambiente e leggere l'estinzione del campione e dello standard contro bianco.

La colorazione è stabile almeno 15' a temperatura ambiente.

Procedura monoreattivo:

| Pipettare nelle provette: | BIANCO | CAMPIONE | STANDARD |
|---------------------------|---------|----------|----------|
| Reattivo (A + B) | 1000 µl | 1000 µl | 1000 µl |
| Acqua distillata | 25 µl | | |
| Campione | | 25 µl | |
| Standard | | | 25 µl |

I volumi di reazione possono essere variati proporzionalmente.

La presente metodica descrive l'utilizzo del kit in manuale.

La calibrazione con standard acquosi può causare un errore sistematico nell'utilizzo con alcuni strumenti automatici.

Si consiglia l'utilizzo del calibratore proteico umano REF.ASR02031.

• Calcolo

$$\text{Acido urico mg/dl} = \frac{E \text{ Campione}}{E \text{ Standard}} \times 6 \text{ (valore calibratore)}$$

Valore standard 6mg/dl = 357 µmol/l.

Urina: Acido Urico mg/24h = Acido Urico mg/dl x 10 (fatt. diluizione) x Volume Urina 24h(dl)

• Prestazioni

A. PRESTAZIONI DEL METODO

Intervallo di misura / linearità: 0.28 - 20 mg/dl
Limite misurabile: 0.28 mg/dl
Sensibilità: 1 mg/dl = 0.0249A a 510nm

B. PRECISIONE NELLA SERIE (N=20 replicati)

| | Media | C.V.(%) |
|-----------------|-----------------|---------|
| Controllo basso | M = 2.60 mg/dl | 2.47 % |
| Controllo medio | M = 6.30 mg/dl | 2.94 % |
| Controllo alto | M = 10.87 mg/dl | 2.54 % |

C. PRECISIONE TRA LE SERIE (N = 20 replicati)

| | Media | C.V.(%) |
|-----------------|-----------------|---------|
| Controllo basso | M = 2.52 mg/dl | 3.12 % |
| Controllo medio | M = 6.08 mg/dl | 6.19 % |
| Controllo alto | M = 10.31 mg/dl | 5.28 % |

D. CORRELAZIONE TRA METODI

Il confronto tra questo metodo (y) ed uno corrispondente del commercio (x) ha dato i seguenti risultati:

$$N = 60 \quad r = 0.999 \quad y = 0.998x - 0.017$$

E. INTERFERENZE (in accordo raccomandazioni SFBC)

1. La Bilirubina non interferisce fino a 10 mg/dl
2. I Trigliceridi non interferiscono fino a 1000 mg/dl
Per una completa valutazione delle sostanze interferenti vedi il lavoro di: Young, D.S., et al., Clin.Chem. 21:1D (1975).

• Limiti del metodo

Per concentrazioni superiori a 20 mg/dl, ripetere l'analisi su campione diluito 1:2 con soluzione fisiologica e moltiplicare il risultato per 2.

Per campioni iperlipemici e con contenuto di bilirubina superiore a 10 mg/dl, eseguire un bianco campione con soluzione fisiologica al posto del Reattivo (A). L'acido ascorbico può causare una falsa diminuzione del valore di acido urico.

• Controllo di Qualità

E' necessario eseguire i controlli ad ogni utilizzo del kit e verificare che i valori ottenuti siano inclusi nell'intervallo di riferimento riportato nelle istruzioni d'uso. A tale scopo si consiglia l'utilizzo dei sieri di controllo Cod. ASR02010 (Normale) e Cod. ASR02020 (Patologico).

• Bibliografia

Trinder P., Ann.Clin.Biochem. 6,24, (1969).
Vassault, A. et al. Ann.Biol.Clin., 44,686, (1986).
Fossati P., Prencipe L., Berti G., Clin.Chem.26.277(1980).



ASSEL S.r.l.
Via E. Barsanti 13/A – 00012 Guidonia (Rm)
Tel.: +39 0774 357492
Fax: +39 0774 372179
e-mail: info@asselitaly.eu

AZIENDA CERTIFICATA
UNI EN ISO 9001:2008
UNI EN ISO 13485:2004
CERTIFIED COMPANY

URIC ACID SL
Enzymatic method (Uricase-POD)
In conformity with Directive 98/79 CE
000271 Rev. 7 of 04/02/2010

| | | |
|------------|------------------|-----------------------------|
| REF | ASR01012 | 4x80 + 1x80 ml + STD |
| | ASR01013 | 2x80 + 1x40 ml + STD |
| | ASKIT0102 | 6x16 + 6x4 ml |

• Principle

Uric Acid is oxidized by Uricase to allantoin and hydrogen peroxide. The released hydrogen peroxide along with DHBS* and aminoantipyrina, in the presence of peroxidase, form a red coloured compound. The intensity of the colour produced is directly proportional to the uric acid concentration.

* = 3,5-Dichloro-2-Hydroxybenzenesulfonate

• Sample

Unhemolyzed serum or heparinized plasma or EDTA and urine.
Note:
Uric Acid in serum is stable for 3 days at room temperature and up to 6 months if stored in refrigerator at -20°C.
Dilute urine 1:10 with saline solution.
If urine sample is muddy, heat it for 10' in a 60°C heating; then centrifuge and dilute.
Shake and bring the samples at room temperature before using.

• Expected value

| | | | |
|-----------------------|-------|-------------------|----------------------|
| SERUM – PLASMA | Men | 3.4 – 7.0 mg/dl | 202.3 – 416.5 µmol/l |
| | Women | 2.4 – 5.7 mg/dl | 142.8 – 339.2 µmol/l |
| URINE | | 200 – 1000 mg/24h | 1200 – 5900 µmol/24h |

Consider the above mentioned values as a reference.
It is strongly recommended that each laboratory establishes its own normal range according to its geographic area.

• Kit composition and possible risk classification

| | |
|---------------------|-------------|
| REAGENT (A) | |
| Buffer | 100 mmol/l |
| Colorante | 1.10 mmol/l |
| REAGENT (B) | |
| Ferrocianuro di K | 50 µmol/l |
| 4-AAP | 0.37 mmol/l |
| Uricasi | ≥ 140 U/l |
| Perossidasi | ≥ 1500 U/l |
| STANDARD (C) | |
| Uric acid | 6 mg/dl |

The kit doesn't contain substance or prepared classified as dangerous according to the currently legislation.

• Package: collection and storage

Store in refrigerator (2 – 8°C).
Stable until the expiration date reported on the package.
After unsealing, it is advised to close up the bottle immediately in order to avoid evaporation, direct light exposure and bacteric contamination.

• Reagent preparation and stability

Liquid Reagent must be at room temperature (15 – 25°C) before using.
The Reagent (A) is limpid and colourless. The Reagent (B) is limpid and pale yellow.

Bi-reagent procedure:

The reagents are ready for use.

Monoreagent procedure:

Add 1 part of Reagent (B) to 4 parts of Reagent (A).

NOTE: Protect Reagent (A+B) from the light.

Reagent (A+B) is stable 7 days at room temperature (15 – 25°C) in the dark and 2 week at 2 – 8°C.

• Precautions and warning

Whenever agents infettantis, chemical reagents, reagents of human/animal origin, blood or other biological liquids are manipulated, it is advisable to follow the most common recommendations and take all the necessary hygienic precautions as the monouse gloves.

• Waste disposal

Please consult local regulations for a correct waste disposal.

• Bibliography

Trinder P., Ann. Clin. Biochem. 6,24, (1969).
Vassault, A. et al. Ann. Biol. Clin.,44,686,(1986).
Fossati P., Prencipe L., Berti G., Clin. Chem.26.277(1980).

• Operative method

Wavelength: 510nm (500-550)
Cuvette: 1 cm light path
Temperature: +25/30/37°C
Zero operation: Against blank reagent
Assay type: End Point
Sample/Reagent ratio: 1/40 – 1/50

Bi – reagent:

| Pipetting in tubes: | BLANK | SAMPLE | STANDARD |
|---------------------|---------|---------|----------|
| Reagent (A) | 1000 µl | 1000 µl | 1000 µl |
| Distilled water | 25 µl | | |
| Sample | | 25 µl | |
| Standard | | | 25 µl |

Mix and incubate for 1 minute.

Reagent (B) 250 µl 250 µl 250 µl
Mix, incubate for 5' at 37°C or 10' at room temperature and read sample and standard extinction against reagent blank.
Colour is stable at least 15' at room temperature.

Mono – reagent:

| Pipetting in tubes: | BLANK | SAMPLE | STANDARD |
|---------------------|---------|---------|----------|
| Reagent (A) | 1000 µl | 1000 µl | 1000 µl |
| Distilled water | 25 µl | | |
| Sample | | 25 µl | |
| Standard | | | 25 µl |

Volumes can be proportionally modified.

This methodology describes the manual procedure to use the kit.
Calibration with watery standard may cause a systematic error when using automatic instrumentations.
Human proteic calibrator REF. ASR02031 is suggested.

• Calculation

$$\text{Uric Acid mg/dl} = \frac{(E) \text{ Sample}}{(E) \text{ Standard}} \times 6$$

Standard Value 6 mg/dl = 357 µmol/l.

Urine: Uric Acid mg/24h = Uric Acid mg/dl x 10 (dilution factor) x Urine Volume 24/h (dl).

• Performance

A. METHOD PERFORMANCE

Measure interval / linearity: 0.28 – 20 mg/dl
Detection limit: 0.28 mg/dl
Sensitivity: 1 mg/dl = 0.0249A a 510nm

B. INTRA-ASSAY PRECISION: n=20

| | Mean | C.V.(%) |
|----------------|-----------------|---------|
| Low control | M = 2.60 mg/dl | 2.47 % |
| Medium control | M = 6.30 mg/dl | 2.94 % |
| High control | M = 10.87 mg/dl | 2.54 % |

C. INTER-ASSAY PRECISION: n=20

| | Mean | C.V.(%) |
|----------------|-----------------|---------|
| Low control | M = 2.52 mg/dl | 3.12 % |
| Medium control | M = 6.08 mg/dl | 6.19 % |
| High control | M = 10.31 mg/dl | 5.28 % |

D. CORRELATION BETWEEN METHODS

This method compared with a correspondent one from the competition, has given the following results:

N = 60 r = 0.999 y = 0.998x – 0.017

E. INTERFERENCE (in accordance with recommendations SFBC)

1. Bilirubine does not interfere up to 10 mg/dl
2. Triglycerides don't interfere up to 1000 mg/dl
For a thorough evaluation of the interfering substances, consult: Young, D.S., et al., Clin. Chem. 21:1D (1975).

• Limitations

For concentration higher than 20 mg/dl, repeat the measure on sample diluted 1:2 with saline solution and multiply the results by 2.
Grossly lipemic sample or sample with a content of bilirubine > 10 mg/dl will cause false values, consequently a serum blank should be run. Add physiological solution instead of Reagent (A).
Ascorbic Acid may cause a false decrease in Uric Acid value.

• Quality Control

It is recommended to execute the quality control at every kit utilization to verify that values are within the reference range indicated by the methodology. For this purpose the use of test serum REF. ASR02010 (Normal level) and REF. ASR02020 (Pathologic level) is suggested.



URIC ACID SL

Enzymatic method (Uricase-POD)

In conformity with
Directive 98/79 CE

000271



ASR01012
ASR01013
ASKIT0102

4x80 + 1x80 ml + STD
2x80 + 1x40 ml + STD
6x16 + 6x4 ml

| | ELLIPSE rev.0 of 28/06/10 | LIASYS rev.0 of 28/06/10 |
|---------------------------|------------------------------|-----------------------------|
| Description: | URIC ACID | URIC ACID |
| Unit: | mg/dl | mg/dl |
| Decimals: | 1 | 1 |
| LIS Code: | UAC | UAC |
| Unit Factor: | 1.0 | 1.0 |
| Slope: | 1.00 | 1.00 |
| Intercept: | 0.00 | 0.00 |
| Reaction Type: | End Point | End Point |
| Direction: | Up | Up |
| E.P Limit: | 0.005 | 0.005 |
| Depl.Limit: | | |
| First Limit: | | |
| Linear Factor: | | |
| Fit: | | |
| RBL Replicates: | x 1 | x 1 |
| RBL Max CV%: | 10 | 10 |
| RBL Min (abs): | -0.0100 | -0.0100 |
| Max (abs): | 0.1000 | 0.1000 |
| Lin. Lim. Low: | 0.0 | 0.0 |
| High: | 30 | 30 |
| Rerun when over: | No | No |
| Calculation Model: | Standard | Standard |
| Factor: | 1.0 | 1.0 |
| Sample Blank: | No | No |
| Reference Range | * | * |
| Parameters | | |
| Predilut | Times (sec): | |
| | Dil./Reag Code: | |
| | Lot Number: | |
| | Ratio/Vol (ul): | |
| C. + R.1 | Times (sec): | |
| | Dil./Reag Code: | UAC |
| | Lot Number: | |
| | Ratio/Vol (ul): | 225 |
| | Rinse (ul): | 0 |
| | Sample (ul): | 6 |
| Reag 2 | Times (sec): | |
| | Dil./Reag Code: | |
| | Lot Number: | |
| | Ratio/Vol (ul): | |
| | Rinse (ul): | |
| | Sample (ul): | |
| Reag 3 | Times (sec): | |
| | Dil./Reag Code: | |
| | Lot Number: | |
| | Ratio/Vol (ul): | |
| | Rinse (ul): | |
| | Sample (ul): | |
| Wash | | |
| Incubation | 304 | 314 |
| Read | | |
| Filter 1 (nm): | 510 | 510 |
| Filter 2 (nm): | (none) | (none) |
| Bichr. Factor: | 1.0 | 1.0 |
| RBL Stability (days): | 1 | 1 |
| Calibration Stab. (days): | 7 | 7 |
| Dinamic Controls (min.): | * | * |

* user-defined

• Performance ELLIPSE

METHOD PERFORMANCE

Linearity: 30,03 mg/dl
Sensitivity: 0,1 mg/dl = 0,0027 A

STABILITY ON BOARD:

Stable two weeks if reagent is kept refrigerated and capped (after working session)

INTRA-ASSAY PRECISION: n=40

| | Media | DS | CV |
|------------------|-------|------|------|
| Normal control | 4,83 | 0,05 | 0,98 |
| Abnormal control | 11,64 | 0,15 | 1,30 |

INTER-ASSAY PRECISION: n=40

| | Media | DS | CV |
|------------------|-------|------|------|
| Normal control | 4,83 | 0,12 | 2,51 |
| Abnormal control | 11,64 | 0,27 | 2,33 |

CORRELATION BETWEEN METHODS

This method compared with a correspondent one from the competition, has given the following results:

N = 127 r = 0.96 y = 1.08x + 0.79

• Performance LIASYS

METHOD PERFORMANCE

Linearity: 30,29 mg/dl
Sensitivity: 0,1 mg/dl = 0,0027 A

STABILITY ON BOARD:

Stable two weeks in refrigerated compartment and capped overnight

INTRA-ASSAY PRECISION: n=40

| | Media | DS | CV |
|------------------|-------|------|------|
| Normal control | 4,75 | 0,06 | 1,20 |
| Abnormal control | 11,51 | 0,10 | 0,87 |

INTER-ASSAY PRECISION: n=40

| | Media | DS | CV |
|------------------|-------|------|------|
| Normal control | 4,75 | 0,13 | 2,64 |
| Abnormal control | 11,51 | 0,26 | 2,28 |

CORRELATION BETWEEN METHODS

This method compared with a correspondent one from the competition, has given the following results:

N = 127 r = 0.95 y = 1.09x + 0.71