

Order information:

Catalog No.	Contents			
4848	R1	8 x	20 ml	R4 1 x 5 ml
4841	R1	4 x	100 ml	R4 1 x 5 ml

Intended use:

Enzymatic in vitro test for the quantitative determination of uric acid in human serum and plasma.

Summary:

Uric acid is the final product of purine metabolism in the human organism. Uric acid measurements are used in the diagnosis and treatment of numerous renal and metabolic disorders, including renal failure, gout, leukaemia, psoriasis, starvation or other wasting conditions, and of patients receiving cytotoxic drugs.

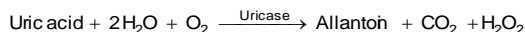
The oxidation of uric acid provides for two approaches to the quantitative determination of this purine metabolite. One approach is the reduction of phosphotungstic acid in an alkaline solution to tungsten blue, which is measured photometrically. The method is, however, subject to interferences from drugs and reducing substances other than uric acid.

A second approach, described by Praetorius and Poulson, utilizes the enzyme uricase to oxidise uric acid; this method eliminates the interferences intrinsic to chemical oxidation. Uricase can be employed in methods that involve the UV measurement of the consumption of uric acid or in combination with other enzyme to provide a colorimetric method.

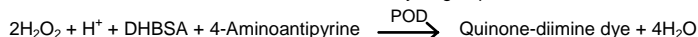
The assay described here is a slight modification of the colorimetric method. The modifications were described by Siedel. This reaction, the peroxide reacts in the presence of peroxidase, DHBSA and aminoantipyrine to form a quinoneimine dye. The intensity of the red color is proportional to the uric acid concentration and is determined photometrically.

Test principle:

Colorimetric endpoint assay (Uricase-PAP-method)



Uricase cleaves uric acid to form allantoin and hydrogen peroxide.



The increase in absorbance is measured.

Reagent concentration:

R1:

Phosphate buffer pH 7.4	50 mmol/l
DHBSA*	4 mmol/l
Uricase	60 U/l
POD	660 U/l
4-Aminoantipyrine	1 mmol/l
Preservative	

* 3,5-Dichloro-2-hydroxy-benzenesulfonic acid

R4:

Uric acid	6 mg/dl (356.9 µmol/l)
-----------	------------------------

Preparation and stability:

R1: ready for use

R4: ready for use

The reagents are stable up to the expiry date in the label when stored light protected at +2°C to +8°C.

After opening: to expiry date at +2°C to +8°C, protect from light
21 days at +20°C to +25°C, protect from light

Coloration of the reagent (reagent blank at 546 nm, 1 cm > 0.2) indicates a contamination, damage during transport or due storage at higher temperatures.

Specimen:

Serum/plasma

Collect serum using standard sampling tubes.

Heparin, or EDTA-plasma

Stability: 5 days at +2°C to +8°C

6 months at -20°C

Urine

Collect urine without using preservatives.

Stability: Assay urinary uric acid as soon as possible. Do not refrigerate.

Centrifuge samples containing precipitate before performing the assay.

Blood samples should only be drawn prior to the administration of Metaminazole.

Notes:

For in vitro diagnostic use.

The material safety data sheet contains further safety-related information. It is available for download from our homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com>. Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents.

Limitations - interference:

Criterion: Recovery within ±10% of initial values

Icterus: No significant interference up to an index I of 12 (approximate conjugated and unconjugated bilirubin concentration 12 mg/dl)

Hemolysis: No significant interference up to an index H of 50 (approximate hemoglobin concentration: 50 mg/dl).

Lipemia (Intralipid): Triglycerides may interfere. There is poor correlation between turbidity and triglycerides concentration.

Elevated levels of ascorbic acid produces false low values.

Uricase reacts specifically with uric acid. Other purine derivatives can inhibit the uric acid reaction.

False low results can occur in patients taking Acetaminophen (Paracetamol), N-Acetyl cysteine (NAC) or Metamizole (Dipyrone). The effect of drugs or their metabolic products on the test is not known in all cases. In case of doubt it is recommended to repeat the test after the medication has been discontinued. However, the medication may only be discontinued according to instructions of the attending physician.

Testing procedure:

Applications for automated systems are available on request

Materials provided

• Working solutions as described above

Additional materials required

• Calibrators and controls as indicated below
• 0.9% NaCl

Manual procedure:			
Wavelength:	Hg 546 nm, (490 - 550)		
Temperature:	+25 / +30 / +37°C		
Cuvette:	1 cm light path		
Zero adjustment:	against reagent blank one reagent blank per series only		
	Blank	Calibrator	Sample
Calibrator/R4	---	20 µl	---
Sample	---	---	20 µl
R1	1000 µl	1000 µl	1000 µl
Mix, incubate for 5 min. at +37°C or 10 min at +20°C or +25°C. Read absorbance of the sample against reagent blank within 30 min.			
Calculation:			
By calibrator:			
$\frac{\Delta A \text{ sample}}{\Delta A \text{ calibrator}} \times \text{calibrator conc.} = \text{Uric acid conc.}$			

Unit conversion: mg/dl x 59.5 = µmol/l
mg/dl x 0.059 = mmol/l

Measuring /reportable range:

0.2 – 20.0 mg/dl (11.9 – 1190 µmol/l)

Determine samples with uric acid concentrations > 20 mg/dl via the rerun function. On instruments without rerun function, manually dilute the samples with 0.9% NaCl or distilled/deionized water (e.g. 1 + 1). Multiply the result by the appropriate dilution factor (e.g. factor 2).

Expected values:

Serum/plasma:

Male: 3.4 – 7.0 mg/dl (202.3 – 416.5 µmol/l)

Female: 2.4 – 5.7 mg/dl (142.8 – 339.2 µmol/l)

Urine

(Reference range according to Krieg and Colombo)

Morning urine 37 – 92 mg/dl (2200 – 5475 µmol/l)

24 hour urine 200 – 1000 mg/24h (1200 – 5900 µmol/l/24h)

corresponding to 13 – 67 mg/dl* (773 – 3986 µmol/l*)

* Calculated from a urine volume of 1.5 l/24h

Urine (Reference range according to Tietz)

Average diet: 250 – 750 mg/24h

Low purine diet: Male: < 480 mg/24h

Female: < 400 mg/24h

High purine diet: < 1000 mg/24h

Each laboratory should investigate the transferability of the expected values to its own patient population and if necessary determine its own reference range. For diagnostic purposes the uric acid results should always be assayed in conjunction with the patient's medical history, clinical examinations and other findings.

Analytical sensitivity (lower detection limit):

Detection limit: 0.2 mg/dl (11.9 µmol/l)

The lower detection limit represents the lowest measurable uric acid concentration that can be distinguished from zero.

Imprecision:

Serum

Reproducibility was determined using human samples and controls (n = 20). The following results were obtained:

Sample	Within run		
	Mean mg/dl	SD mg/dl	CV %
Sample1	4.23	0.03	0.74
Sample2	5.96	0.04	0.65
Sample3	11.49	0.06	0.48

Sample	Between day		
	Mean mg/dl	SD mg/dl	CV %
Sample1	4.70	0.04	0.92
Sample2	6.44	0.08	1.27
Sample3	11.03	0.13	1.20

Method comparison:

A comparison of the Analyticon Fluitest® UA (y) with a commercial obtainable assay (x) gave with 44 samples the following result:

$$y = 0.897 x - 1.149; \quad r = 0.9685$$

Quality Control:

Human Control Serum:

Contronorm® Plus	5 x 5 ml	#1205
	20 x 5 ml	#1220
Controptath® Plus	5 x 5 ml	#1305
	20 x 5 ml	#1320

Human Urine Control:

Urine control Set	8 x 5 ml	#1507
-------------------	----------	-------

The control intervals and limits must be adapted to the individual laboratory and country-specific requirements. Values obtained should fall within established limits. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the limits.

Calibration:

S1:	0.9% NaCl		
S2:	Bio Cal®	20 x 3 ml	#1420
	Bio Cal® E	10 x 3 ml	#1430
	R4: calibrator provided in kit		

Calibration frequency:

Two-point calibration is recommended

- after lot change
- as required following quality control procedures

Disposal:

Please note the legal regulations.

Literature:

1. Colombo J-P (ed) Klinisch - chemische Urindiagnostik. Rotkreuz: Labolive-Verlagsgesellschaft 1994:180
2. DiGiorgio J; Henry RJ, et al eds. Clinical Chemistry: Principles and Technics. 2nd ed. New York NY: Harper and Row; 1974:532.
3. Elking SM, Kabat HF. Am Soc Hosp Pharm. 1969;25:485.
4. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation, Clin Chem 1986;32:470-474
5. Greiling H, Gressner AM, eds. Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3re ed. Stuttgart/New York: Schattauer Verlag; 1995.
6. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B, List of Analytes ; Pre analytical Variables. Brochure in Samples: From the Patient to the Laboratory. Darmstadt :GIT Verlag 1996
7. Haug HG. Diagnostik. 1972;18:137.
8. Kageyama N. A direct colorimetric determination of uric acid in serum and urine with uricase-catalase system. Clin Chim Acta 1971;31:421-426.
9. Kaiser E, et.al. Wiener Klin Wschr. 1972;84:217.
10. Keller H, ed. Klinisch-chemische Labordiagnostik für die Praxis, 2nd ed. Stuttgart/New York: Georg Thieme Verlag,1991.
11. Kim EK,wadel LD, sunderland MLE et al Observations on Diagnostic Kits for the Determination of Uric Acid. Clin Biochem. 1971;4:279-286.
12. Krieg M et al Vergleichende quantitative Analytik klinisch-chemischer Kenngrößen im 24 Stunden -Urin und Morgenurin. J Clin Chem Clin Biochem 1986;24:863-869.
13. Kueffer H. Therap Umschau.1971;28:669.
14. Praetorius E Poulsen H. Enzymatic Determination of Uric Acid with Detailed Directions. Scandinav J Clin Lab Investigation 1953;3:273-280.Mac Kay EM Mac Kay LL J Clin Invest 1927;4:295
15. Rice EW Gorgan BS. Clin chem. 1962;8:181.
16. Sing HP, et al Clin Chem. 1972;18:137.
17. Thefeld W, Hoffmeister H, Busch EW et al. Normalwerte der Serumharnsäure in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht mit einem neue enzymatischen Harnsäurefarbttest. Dtsch Med Wschr 1973;98:380-384.
18. Tietz NW. Clinical Guide to Laboratory Tests 3rd ed. Philadelphia, Pa. WB Saunders Company. 1995:624-629.
19. Town MH, Gehm S, Hammer B, Ziegenhorn J. J Clin Chem Clin Biochem 1985; 23:591.
20. Young DS, et al Clin Chem 1972;18:1042

Bestellinformationen:

Katalog-Nr.	Inhalt
4848	R1 8 x 20 ml R4 1 x 5 ml
4841	R1 4 x 100 ml R4 1 x 5 ml

Anwendungszweck:

Enzymatischer in vitro Test zur quantitativen Bestimmung von Harnsäure in Humanserum und -plasma mit klinisch-chemischen Analysenautomaten.

Zusammenfassung:

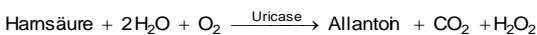
Harnsäure ist das Endprodukt des Purinstoffwechsels im menschlichen Organismus. Harnsäurebestimmungen werden zur Diagnose und Verlaufskontrolle zahlreicher Nieren- und Stoffwechselstörungen wie Niereninsuffizienz, Gicht, Leukämie, Psoriasis, bei Hungerzuständen und anderen Erkrankungen mit Ernährungsstörungen sowie bei Patienten unter zytostatischer Therapie eingesetzt. Die Oxidation der Harnsäure bildet die Grundlage für zwei Verfahren zur Bestimmung dieses Purinmetaboliten. Ein Verfahren ist die Reduktion der Phosphorwolframsäure in alkalischer Lösung zu Wolframblau, das photometrisch gemessen wird. Diese Methode ist aufgrund von Störungen durch Medikamente und anderer reduzierender Substanzen neben Harnsäure unspezifisch.

Ein zweites Verfahren, von Prätorius und Poulsen beschrieben, verwendet das Enzym Uricase zur Oxidation der Harnsäure. Diese Methode eliminiert im Wesentlichen die Einflüsse durch chemische Oxidation. Die Uricase kann bei Methoden eingesetzt werden, die über UV-Messungen den Verbrauch an Harnsäure bestimmen oder in Kombination mit anderen Enzymen in einem Farb-Test.

Die vorliegende enzymatische Methode ist eine Variante des enzymatischen Farb-Tests, modifiziert von Siedel. Das entstandene Wasserstoffperoxid bildet mit 4-Aminophenazon und DHBS unter katalytischer Wirkung der Peroxidase einen Chinondiiminfarbstoff. Die Farbintensität des entstandenen roten Farbstoffs ist direkt proportional der Harnsäurekonzentration und wird photometrisch gemessen.

Testprinzip:

Colorimetrischer Endpunkt Test (Uricase-PAP-Methode)



Uricase spaltet Harnsäure und führt zur Entstehung von Allantoin und Wasserstoffperoxid.



Der Anstieg der Extinktion durch die Farbstoffentstehung wird gemessen.

Konzentrationen der gebrauchsfertigen Lösungen:

R1:	
Phosphat-Puffer: pH 7,4	50 mmol/l
DHBS*	4 mmol/l
Uricase	60 U/l
POD	660 U/l
4-Aminoantipyrin	1 mmol/l
Konservierungsmittel	
* 3,5-Dichlor-2-hydroxy-benzolsulfonsäure	

R4:	
Harnsäure	6 mg/dl (356,9 µmol/l)

Herstellung und Haltbarkeit:

R1 und R4: Inhalt ist gebrauchsfertig
Ungeöffnete Packungsbestandteile sind bei +2 bis +8°C und lichtgeschützt gelagert bis zum angegebenen Verfallsdatum stabil.

Nach dem Öffnen:
bis zum Verfallsdatum wenn bei +2 bis +8°C, lichtgeschützt gelagert
21 Tage wenn bei +20 bis +25°C, lichtgeschützt gelagert

Eine Einfärbung der Reagenzien (Leerwert bei 546nm, 1cm > 0,2) weist auf eine Verunreinigung, Schädigung beim Transport oder eine Beschädigung durch Lagerung bei zu hohen Temperaturen hin.

Untersuchungsmaterial

Serum/Plasma	
Serum, entnommen mit Standard-Probenentnahmeröhrchen Heparin- oder EDTA-Plasma	
Haltbarkeit:	5 Tage bei +2 bis +8°C 6 Monate bei -20°C

Urin
Haltbarkeit: Die Bestimmung sofort durchführen. Nicht im Kühlschrank lagern.
Proben, die Präzipitate enthalten, müssen vor dem Test zentrifugiert werden.
Blutproben sollten nur vor der Verabreichung von Metaminazol entnommen werden.

Hinweis:

In vitro Diagnostikum.
Weitere sicherheitsrelevante Informationen sind im Sicherheitsdatenblatt enthalten. Dieses steht auf unserer Homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com> zum Download bereit.
Die beim Umgang mit Laborreagenzien üblichen Vorsichtsmaßnahmen beachten.

Einschränkungen des Verfahrens – Interferenzen:

Als Bewertung gilt: Wiederfindung ± 10% vom Ausgangswert. *Serum/Plasma*
Ikterus: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index I von 12 entsprechend 12 mg/dl konjugiertes und unkonjugiertes Bilirubin. Hämolyse: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index H von 50 (ca. 50 mg/dl Hämoglobin).

Lipämie (Intralipid): Triglyceride können die Messung stören. Es besteht keine zufrieden stellende Übereinstimmung zwischen Trübung und Triglyceridkonzentration.

Erhöhte Ascorbinsäure-Konzentrationen verursachen falsch erniedrigte Werte. Uricase reagiert spezifisch mit Harnsäure. Andere Purinabkömmlinge können die Harnsäurereaktion hemmen.

Falsch niedrige Ergebnisse können bei Patienten auftreten, die Acetaminophen (Paracetamol), N-Acetylcystein (NAC) oder Metamizol (Novaminsulfon, Dipyron) bekommen. Die Auswirkung von Medikamenten oder deren Metaboliten auf den Test ist nicht in allen Fällen bekannt. Im Zweifelsfall wird deshalb empfohlen, den Test nach Absetzen der Medikation zu wiederholen. Ein Absetzen der Medikation darf allerdings nur nach Anweisung des behandelnden Arztes erfolgen.

Testverfahren:

Applikationen für automatisierte Systeme sind auf Anfrage erhältlich.

Gelieferte Materialien

- Gebrauchsfertige Lösungen
- Zusätzlich benötigte Materialien
- Kalibrations- und Kontrollmaterial wie nachfolgend beschrieben.
- Natriumchlorid-Lösung (0,9%)

Manuelle Testdurchführung:			
Wellenlänge:	Hg 546 nm, (490-550)		
Temperatur:	+25 / +30 / +37°C		
Schichtdicke:	1 cm		
Messung:	gegen Reagenzienleerwert (RLW), Pro Messreihe nur einmal erforderlich		
	RLW	Kalibrator	Probe
Kalibrator/R4	---	20 µl	---
Probe	---	---	20 µl
R1	1000 µl	1000 µl	1000 µl
Mischen, 5 Min. bei +37°C oder 10 Min bei +20°C bzw. +25°C inkubieren. Innerhalb von 30 Min die Probenextinktion gegen den RLW messen.			
Berechnung:			
Mit Kalibrator: $\frac{\Delta E \text{ Probe}}{\Delta E \text{ Kalibrator}} \times \text{Kalibrator Konz.} = \text{Harnsäurekonz.}$			

Umrechnungsfaktor: mg/dl x 59,5 = µmol/l
mg/dl x 0,059 = mmol/l

Messbereich:

0,2-20,0 mg/dl bzw. 11,9-1190 µmol/l

Proben mit Harnsäurekonzentrationen > 20,0 mg/dl werden über eine "Rerun-Funktion" bestimmt. Bei Geräten ohne Rerun-Funktion werden diese Proben manuell mit Natriumchlorid-Lösung (0,9%) oder dest. bzw. entionisiertem Wasser verdünnt (z. B. 1 + 1). Das Ergebnis ist mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor zu multiplizieren (z. B. Faktor 2).

Referenzbereich

Serum/Plasma	
Männer:	3,4-7,0 mg/dl (202,3-416,5 µmol/l)
Frauen:	2,4-5,7 mg/dl (142,8-339,2 µmol/l)
Urin (Referenzbereich nach Krieg und Colombo)	
Morgenerin	37-92 mg/dl (2200-5475 µmol/l)
24-Stunden-Urin	200-1000 mg/24 h (1200-5900 µmol/l/24 h)
entsprechend	13-67 mg/dl (773-3986 µmol/l*)
*berechnet aus einem Urinvolumen von 1,5 l/24 h	

Urin (Referenzbereich nach Tietz)

Normale Ernährung: 250-750 mg/24h

Ernährung mit niedrigem Puringehalt:

Männer: < 480 mg/24h
Frauen: < 400 mg/24h

Ernährung mit hohem Puringehalt: < 1000 mg/24h

Jedes Labor sollte die Übertragbarkeit der Referenzbereiche für die eigenen Patientengruppen überprüfen und gegebenenfalls eigene Referenzbereiche ermitteln. Für diagnostische Zwecke sind die Harnsäureergebnisse stets im Zusammenhang mit der Anamnese, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.

Sensitivität (analytische Nachweisgrenze)

Nachweisgrenze: 0,2 mg/dl bzw. 11,9 µmol/l

Die Nachweisgrenze entspricht der niedrigsten messbaren Harnsäurekonzentration, die von Null unterschieden werden kann.

Impräzision:

Serum

Die Reproduzierbarkeit wurde mit Kontrollproben (n = 20) bestimmt und ergab folgende Ergebnisse:

In der Serie			
Probe	MW mg/dl	SD mg/dl	VK %
Probe 1	4,23	0,03	0,74
Probe 2	5,96	0,04	0,65
Probe 3	11,49	0,06	0,48

Tag / Tag			
Probe	MW mg/dl	SD mg/dl	VK %
Probe 1	4,70	0,04	0,92
Probe 2	6,44	0,08	1,27
Probe 3	11,03	0,13	1,20

Methodenvergleich:

Bei einem Vergleich von Analyticon Fluitest® UA (y) mit einem kommerziell erhältlichen Test (x) wurde mit 44 Proben folgendes Ergebnis erzielt:

$$y = 0,897 x - 1,149; \quad r = 0,9685$$

Qualitätskontrolle:

Humanes Kontrollserum:

Contronorm® Plus	5 x 5 ml	#1205
	20 x 5 ml	#1220
ControPath® Plus	5 x 5 ml	#1305
	20 x 5 ml	#1320

Humaner Kontrollurin:

Urine control Set	8 x 5 ml	#1507
-------------------	----------	-------

Die Kontrollintervalle und Kontrollgrenzen sind den individuellen Anforderungen jedes Labors und den länderspezifischen Richtlinien anzupassen. Die Ergebnisse müssen innerhalb der festgesetzten Bereiche liegen. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall beschreiben, dass Werte außerhalb des Bereichs liegen.

Kalibrierung:

S1:	0.9% NaCl	
S2:	R4: Kalibrator in Packung enthalten	
	Bio Cal®	#1420
	Bio Cal® E	#1430

Kalibrationshäufigkeit

Eine Zweipunktkalibration wird empfohlen:

- Bei Chargenwechsel
- Wenn Qualitätskontrollverfahren dies erfordern

Entsorgung:

Bitte beachten Sie die gesetzlichen Vorschriften.

Literatur:

1. Colombo J-P (ed) Klinisch - chemische Urindiagnostik. Rotkreuz: Labolive-Verlagsgesellschaft 1994:180
2. DiGiorgio J; Henry RJ, et al eds. Clinical Chemistry: Principles and Technics. 2nd ed. New York NY: Harper and Row; 1974:532.
3. Elking SM, Kabat HF. Am Soc Hosp Pharm. 1969;25:485.
4. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation, Clin Chem 1986;32:470-474
5. Greiling H, Gressner AM, eds. Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3re ed. Stuttgart/New York: Schattauer Verlag; 1995.
6. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B, List of Analytes ; Pre analytical Variables. Brochure in Samples: From the Patient to the Laboratory. Darmstadt :GIT Verlag 1996
7. Haug HG. Diagnostik. 1972;18:137.
8. Kageyama N. A direct colorimetric determination of uric acid in serum and urine with uricase-catalase system. Clin Chim Acta 1971;31:421-426.
9. Kaiser E, et.al. Wiener Klin Wschr. 1972;84:217.
10. Keller H, ed. Klinisch-chemische Labordiagnostik für die Praxis, 2nd ed. Stuttgart/New York: Georg Thieme Verlag,1991.
11. Kim EK,wadel LD, sunderland MLE et al Observations on Diagnostic Kits for the Determination of Uric Acid. Clin Biochem. 1971;4:279-286.
12. Krieg M et al Vergleichende quantitative Analytik klinisch-chemischer Kenngrößen im 24 Stunden -Urin und Morgenurin. J Clin Chem Clin Biochem 1986;24:863-869.
13. Kueffer H. Therap Umschau.1971;28:669.
14. Praetorius E Poulsen H. Enzymatic Determination of Uric Acid with Detailed Directions. Scandinav J Clin Lab Investation 1953;3:273-280.Mac Kay EM Mac Kay LL J Clin Invest 1927;4:295
15. Rice EW Gorgan BS. Clin chem. 1962;8:181.
16. Sing HP, et al Clin Chem. 1972;18:137.
17. Thefeld W, Hoffmeister H, Busch EW et al. Normalwerte der Serumharnsäure in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht mit einem neue enzymatischen Harnsäurefarbstest. Dtsch Med Wschr 1973;98:380-384.
18. Tietz NW. Clinical Guide to Laboratory Tests 3rd ed. Philadelphia, Pa. WB Saunders Company. 1995:624-629.
19. Town MH, Gehm S, Hammer B, Ziegenhorn J. J Clin Chem Clin Biochem 1985; 23:591.
20. Young DS, et al Clin Chem 1972;18:1042