

BioLyzer® Order information:

Catalog No.	BioLyzer	Contents		
B9705	200 / 600	R1	6 x	40 ml
		R2	3 x	49 ml
B9703	300 / 600*	R1	6 x	60 ml
		R2	6 x	40 ml

*only for instruments with a reagent tray for 20 / 70ml bottles

Intended use:

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

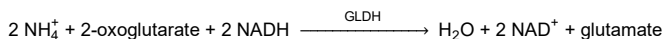
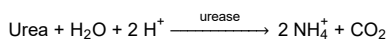
Summary:

The determination of urea is the most widely used test for the evaluation of kidney function. The test is frequently used in conjunction with the determination of creatinine for the differential diagnosis of prerenal hyperuremia (cardiac decompensation, water depletion increased protein catabolism), renal hyperuremia (glomerulonephritis, chronic nephritis, polycystic kidney, nephrosclerosis, tubular necrosis) and postrenal hyperuremia (obstructions of the urinary tract).

Urea is the final degradation product of protein and amino acid metabolism. In protein catabolism the proteins are broken down to amino acids and deaminated. The ammonia formed in this process is synthesized to urea in the liver. This is the most important catabolic pathway for eliminating excess nitrogen in the human body. In 1914 Marshall introduced an assay based on the enzyme urease for determining urea in blood. The ammonia released from urea by urease was measured titrimetrically. Numerous other techniques have since been employed to measure the ammonia produced. These include Bertholot's indophenol assay and the reaction of ammonia with Nessler's reagent. Subsequent modifications have been published by Fawcett and Scott and by Chaney and Marbach. In 1995, Talke and Schubert published a totally enzymatic procedure for the determination of urea using the coupled urease/glutamate dehydrogenase (GLDH) enzyme system. The Analyticon UREA/BUN assay is based on the completely enzymatic method. It has been optimized for automatic analyzers that permit kinetic measurements.

Test principle:

Urea is hydrolysed in presence of urease to produce ammonia and CO₂. The ammonia produced combines with 2-oxoglutarate and NADH in presence of GLDH to yield glutamate and NAD.



The decrease in absorbance due to consumption of NADH is measured kinetically.

Reagent concentration:

R1:	
BICIN* buffer pH 7.6	50 mmol/l
GLDH	≥ 0.80 U/l
Urease	≥ 12 U/ml
R2:	
TRIS** buffer pH 9.6	100 mmol/l
2-oxoglutarate	8.3 mmol/l
NADH	≥ 0.23 mmol/l

* BICIN = N,N-bis(2-hydroxyethyl)-glycine
** TRIS = Tris (hydroxymethyl)-aminomethane

Preparation and stability:

R1: ready for use
R2: ready for use
The reagents are stable up to the expiry date on the label when stored at +2°C to +8°C.
Onboard stability: R1 60 days
R2 60 days

Specimen:

Serum
Collect serum using standard sampling tubes.
Li-heparin, Na- heparin or K-EDTA plasma. Do not use ammonium heparin.
Stability: 7 days at +20°C to +25°C
7 days at +2°C to +8°C
1 year at -20°C

Centrifuge samples containing precipitate before performing the assay.

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 value.
Icterus: No significant interference up to an I index of 100 (approximate conjugated and unconjugated bilirubin concentration 100 mg/dl)
Hemolysis: No significant interference up to an H Index of 1200 (approximate hemoglobin concentration: 1200 mg/dl).
Lipemia (Intralipid): No significant interference up to an L index of 1000 (approximate triglycerides concentration: 2000 mg/dl).
There is poor correlation between turbidity and triglycerides concentration
Ammonia produced on the cuvette during a GLDH or lactate UV determination interferes with the UREA/BUN assay. The urea/BUN must therefore not be installed on the analyzers together with reagents for the GLDH or lactate UV test. In urine endogenous ammonium ions interfere with the urea/BUN assay. Elevated concentrations can occur under acidic conditions (e.g. acidosis.)
Great care must be taken to prevent ammonia contamination of the specimens and calibrators to be analyzed for urea/urea nitrogen.
Blood samples should only be drawn prior to the administration of sulfasalazine and sulfapyridine. Physiological plasma concentrations of sulfasalazine or sulfapyridine can lead to incorrect results.
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:

Materials provided
• Working solutions as described above
Additional materials required
• Calibrators and controls as indicated below
• 0.9% NaCl

Calculation:

Conversion into SI-units, relation between urea and urea-nitrogen:
mg/dl x 0.166 = mmol/l (urea)
mg/dl urea x 0.467 = mg/dl urea-nitrogen

Measuring/reportable range:

Serum/plasma
2,5 - 420 mg/dl (0.42 - 70 mmol/l) urea or 1.2 - 196 mg/dl urea nitrogen.
Determine samples with higher concentrations using the rerun function with 0.9% NaCl.

Expected values:

Serum/plasma
10 - 50 mg/dl (1.7 - 8.3 mmol/l) urea
Reference ranges for children are given in the brochure "Reference ranges for adults and children; preanalytical considerations" by Heil W. Koberstein R, Zawta B. (published by Boehringer Mannheim GmbH 1997).
Morning urine
847 - 2967 mg/dl (141 - 494 mmol/l)
24-hour urine
10 - 35 g/24h (170 - 580 mmol/24h), corresponding to
670 - 2300 mg/dl (110 - 390 mmol/l)
The expected values are influenced by daily take-up of proteins on relation to the body weight.

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 urea 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: 2.5 mg/dl (0.42 mmol/l)
The lower detection limit represents the lowest measurable urea activity that can be distinguished from zero.

Precision:

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

Serum	Within run		
	Mean mg/dl	SD mg/dl	CV %
Sample1	42.97	0.751	1.8
Sample2	150.45	0.987	0.7
Sample3	95.95	0.943	1.0

Serum	Run to run		
	Mean mg/dl	SD mg/dl	CV %
Sample1	143.60	3.449	2.4
Sample2	32.17	1.861	5.8
Sample3	93.47	2.301	2.5

Fluitest® UREA

UREA



Method comparison:

A comparison of the Analyticon Fluitest® UREA/BUN (y) with a commercial obtainable assay (x) gave the following result:

$$y = 0.935x + 0.24; \quad r = 0.9970$$

Quality Control:

Human Control Serum:

Contronorm® Plus	5 x 5 ml	#1205
	20 x 5 ml	#1220
Contropath® 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:

Calibration Type: Linear

S1: 0.9% NaCl

S2: Bio Cal® E	10 x 3 ml	#1430
----------------	-----------	-------

Disposal:

Please note the legal regulations.

Literature:

1. Berthelot MPE Reper Chim Appl 1859;282
2. Chaney AL Marbach EP Clin Chem 1962;8:131
3. Colombo J-P (ed) Klinisch - chemische Urindiagnostik. Rotkreuz: Labolive-Verlagsgesellschaft 1994:180
4. Fawcett JK Scott JE J Clin Chem 1962;13:156
5. Gentzkow C.J. J Biol Chem 1942;143:531
6. Glick MR. Ryder KW. Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation, Clin Chem 1986;32:470-474
7. 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
8. Krieg M et al J Clin Chem Clin Biochem 1986;24:863
9. Mac Kay EM Mac Kay LL J clin Invest 1927;4:295
10. Marshall EK Jr. Biol Chem 1913;15:487
11. Neumann U, Ziegenhorn J, Scand J Clin Lab Invest 1977;37, Supplement 147: Abstract 97
12. Talke H Schubert GE Enzymatische Harnstoffbestimmung im Blut und Serum im optischen Test nach Warburg. Klin Wschr 1965;43:174-175
13. Tietz NW. Clinical Guide to Laboratory Tests 3rd ed. Philadelphia, Pa. WB Saunders Company. 1995:624, 622 - 629
14. Tietz NW. Fundamentals of Clinical Chemistry Philadelphia, Pa: WB Saunders Co 1976:991

Text passages with grey background were changed in the latest revision of this package insert.



BioLyzer® Bestellinformation:

Katalog-Nr.	BioLyzer	Inhalt
B9705	200 / 600	R1 6 x 40 ml
		R2 3 x 49 ml
B9703	300 / 600*	R1 6 x 60 ml
		R2 6 x 40 ml

*nur für Instrumente mit Reagenzteller für 20 / 70ml Flaschen

Anwendungszweck:

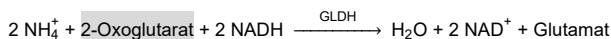
In vitro Test zur quantitativen Bestimmung von Harnstoff in Humanserum, -plasma, und -urin.

Zusammenfassung:

Die Bestimmung von Harnstoff ist der am weitesten verbreitete Test zur Bewertung der Nierenfunktion. Der Test wird häufig zusammen mit der Creatinin-Bestimmung anwendet und dient zur Differenzialdiagnose von prärenal (Herzsuffizienz, Wasserausscheidung, erhöhter Protein-Katabolismus), renal (Glomerulonephritis, chronische Nephritis, polycystische Niere, tubuläre Nekrose) und postrenal (Verstopfung der Harnwege) Hyperurämie. Harnstoff ist das Endprodukt des Eiweiß und Aminosäure-Stoffwechsels. Beim Eiweißabbau werden die Proteine in Aminosäuren zerlegt und desaminiert. Der dabei gebildete Ammoniak wird in der Leber zu Harnstoff umgewandelt. Dies stellt den wichtigsten Abbaueweg für überschüssigen Stickstoff im menschlichen Körper dar. Im Jahr 1914 führte Marshall einen Test zur Bestimmung von Harnstoff im Blut unter Verwendung des Enzyms Urease ein. Der durch die Urease freigesetzte Ammoniak wurde titrimetrisch gemessen. Zahlreiche weitere Methoden wurden seitdem etabliert, um den freigesetzten Ammoniak zu bestimmen. Dazu zählen der Indophenol Test von Berthelot und die Reaktion von Ammoniak mit Nessler's Reagenz. Nachfolgende Modifikationen wurden von Fawcett und Scott sowie Chaney und Marbach publiziert. Talke und Schubert veröffentlichten 1965 eine vollenzymatische Methode zur Bestimmung von Harnstoff unter Verwendung des gekoppelten Enzymsystems Urease/Glutamat-Dehydrogenase (GLDH). Der vorliegende Test basiert auf dieser enzymatischen Methode und eignet sich besonders für Vollautomaten, die kinetische Messungen erlauben.

Testprinzip:

Harnstoff wird durch Urease zu Ammoniak und CO₂ hydrolysiert. Der Ammoniak reagiert mit 2-Oxoglutarat und NADH in Gegenwart von Glutamat-Dehydrogenase zu Glutamat und NAD.



Die Rate der Absorptionsabnahme durch die Verringerung der NADH Konzentration ist proportional zur Harnstoffkonzentration.

Konzentration der gebrauchsfertigen Lösung:

R1:	
BICIN* Puffer pH 7,6	50 mmol/l
GLDH	≥ 0,80 U/l
Urease	≥ 12 U/ml
R2:	
TRIS** Puffer pH 9,6	100 mmol/l
2-Oxoglutarat	8,3 mmol/l
NADH	≥ 0,23 mmol/l

* BICIN = N,N-Bis(2-hydroxyethyl)-Glycin
** TRIS = Tris (hydroxymethyl)-Aminomethan

Herstellung und Haltbarkeit:

R1: Inhalt ist gebrauchsfertig.
R2: Inhalt ist gebrauchsfertig.
Ungeöffnete Packungsbestandteile sind bei +2°C bis +8°C bis zum aufgedruckten Verfallsdatum haltbar.
Onboard Stabilität: R1 60 Tage
R2 60 Tage

Untersuchungsgut:

Serum entnommen mit Standard-Probenentnahmeröhrchen.
Li-, Heparin, NaHeparin, oder K-EDTA-Plasma. Ammoniak-Heparin ist nicht zu verwenden.
Haltbarkeit: 7 Tage bei +20 bis +25°C
7 Tage bei +2 bis +8°C
1 Jahr bei -20°C

Proben, die Präzipitate enthalten, müssen vor dem Test zentrifugiert 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.
Ikterus: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index I von 100 (ca. 100 mg/dl Bilirubin).
Hämolyse: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index H von 1200 (ca. 1200 mg/dl Hämoglobin). Lipämie (Intralipid): Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index L von 1000 (ca. 2000 mg/dl Triglyceride). Es besteht keine zufriedenstellende Übereinstimmung zwischen Trübung und Triglyceridkonzentration.
Ammoniak das bei der GLDH- oder Lactat UV-Test-Bestimmung in der Küvette entsteht, stört die Harnstoff/Harnstoff-Stickstoff-Bestimmung. Das UREA/BUN-Reagenz darf deshalb nicht zusammen mit GLDH- oder Lactat UV-Test-Reagenz auf den Geräten installiert werden. Im Urin wird die Harnstoff/Harnstoff-Stickstoff-Bestimmung durch endogene Ammoniumionen gestört. Erhöhte Konzentrationen können bei Säurebelastung (z.B. Azidose) auftreten.
Um Kontaminationen von Ammoniak auf Proben und Kalibratoren für die Harnstoff/Harnstoff-Stickstoff-Bestimmung zu vermeiden, muss sorgfältig gearbeitet werden. Blutproben sollten nur vor der Verabreichung von Sulfasalazin und Sulfapyridin entnommen werden. Physiologische Plasmakonzentrationen von Sulfasalazin oder Sulfapyridin können zu falschen Ergebnissen führen.
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:

Gelieferte Materialien

• Gebrauchsfertige Lösungen wie vorher angegeben.

Zusätzlich benötigte Materialien

- Kalibrations- und Kontrollmaterial wie nachfolgend beschrieben.
- Natriumchlorid-Lösung (0,9%)

Berechnung:

Umrechnung in SI-Einheiten, Verhältnis zwischen Harnstoff und Harnstoff-Stickstoff:
mg/dl x 0,166 = mmol/l (Harnstoff)
mg/dl Harnstoff x 0,467 = mg/dl Harnstoff-Stickstoff

Messbereich:

Serum/Plasma

2,5 - 420 mg/dl (0,42 - 70 mmol/l) Harnstoff oder 1,2 - 196 mg/dl Harnstoff-Stickstoff. Proben mit höheren Konzentrationen werden über die Rerun-Funktion mit 0,9% NaCl bestimmt.

Referenzbereich:

Serum

10 - 50 mg/dl (1,7 - 8,3 mmol/l) Harnstoff
Referenzbereiche für Kinder bitte der Broschüre "Referenzbereiche für Kinder und Erwachsene, Präanalytik" entnehmen. Heil W, Koberstein R, Zawta B (Hrsg. Boehringer Mannheim GmbH 1997).

Morgenurin

847 - 2967 mg/dl (141 - 494 mmol/l)

24-Stunden-Urin

10 - 35 g/24h (170 - 580 mmol/24h), entsprechend
670 - 2300 mg/dl (110 - 390 mmol/l)

Die Normalwerte werden von der täglichen Proteinzufuhr im Verhältnis zum Körpergewicht beeinflusst.

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

Sensitivität (analytische Nachweisgrenze):

2,5 mg/dl (0,42 mmol/l)

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

Impräzision:

Serum

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

	In der Serie		
Probe	MW mg/dl	SD mg/dl	VK %
Probe	42,97	0,751	1,8
Contronorm	150,45	0,987	0,7
Contropath	95,95	0,943	1,0



Probe	Tag / Tag		
	MW mg/dl	SD mg/dl	VK %
Probe	143,60	3,449	2,4
Contronorm	32,17	1,861	5,8
Contropath	93,47	2,301	2,5

Methodenvergleich:

Bei einem Vergleich von Analyticon Fluitest® UREA/BUN (y) mit einem kommerziell erhältlichen Test (x) wurde folgendes Ergebnis erzielt:

$$y = 0,935x + 0,24; \quad r = 0,9970$$

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

Humane Urin-Kontrolle:

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.

Kalibration:

Kalibrations Typ: Linear

S1: 0.9% NaCl

S2: Bio Cal® 20 x 3 ml #1420

Bio Cal® E 10 x 3 ml #1430

Entsorgung:

Bitte beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

Literatur:

- Berthelot MPE Reperit Chim Appl 1859;282
- Chaney AL Marbach EP Clin Chem 1962;8:131
- Colombo J-P (ed) Klinisch - chemische Urindiagnostik. Rotkreuz: Labolive-Verlagsgesellschaft 1994:180
- Fawcett JK Scott JE J Clin Chem 1962;13:156
- Gentzkow C.J. J Biol Chem 1942;143:531
- Glick MR. Ryder KW. Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation, Clin Chem 1986;32:470-474
- 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
- Krieg M et al J Clin Chem Clin Biochem 1986;24:863
- Mac Kay EM Mac Kay LL J clin Invest 1927;4:295
- Marshall EK Jr. Biol Chem 1913;15:487
- Neumann U, Ziegenhorn J, Scand J Clin Lab Invest 1977;37, Supplement 147: Abstract 97
- Talke H Schubert GE Enzymatische Harnstoffbestimmung im Blut und Serum im optischen Test nach Warburg. Klin Wschr 1965;43:174-175
- Tietz NW. Clinical Guide to Laboratory Tests 3rd ed. Philadelphia, Pa. WB Saunders Company. 1995:624, 622 - 629
- Tietz NW. Fundamentals of Clinical Chemistry Philadelphia, Pa: WB Saunders Co 1976:991

Grau hinterlegte Textpassagen wurden in der letzten Überarbeitung dieser Gebrauchsanweisung geändert.

