

UREA HL

UREA HIGH LINEARITY



Order information:

Catalog No.	Contents					
4905	R1	4 x	50ml	R2	4 x	for 50 ml
	R4	1 x	5 ml			
4901	R1	4 x	100ml	R2	4 x	for 100 ml
	R4	1 x	5 ml			

Intended use:

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

Summary:

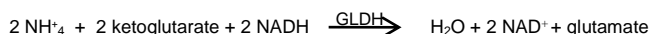
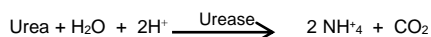
The determination of urea is the most widely used test for the evaluation of kidney function. The test is frequently used in conjunction with the determination of creatinine for the differential diagnosis of prerenal hyperuremia (cardiac decompensation, water depletion increased protein catabolism), 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 1965, Talke and Schubert published a totally enzymatic procedure for the determination of urea using the coupled urease/glutamate dehydrogenase (GLDH) enzyme system.

Test principle:

Urea is hydrolysed in presence of urease to form ammonia and CO₂. The ammonia produced reacts with 2 - ketoglutarate and NADH in presence of GLDH to yield glutamate and NAD.



The decrease in absorbance due to the decrease of NADH concentration is proportional to the Urea concentration.

Reagent Concentration:

R1:	
Tris buffer pH 8.0	80 mmol/l
2-Oxoglutarate	15 mmol/l
R2:	
GLDH	6000 U/l
NADH	0.32 mmol/l
Urease	> 100 U/ml
R4:	
Urea	50 mg/dl

Preparation and stability:

Unopened vials are stable until the end of the expiration date when stored at 2–8°C. Dissolve enzyme reagent/R2 with buffer /R1 by gently moving for 20 min. The working solution is stable up to:

5 days	at +20°C to +25°C
28 days	at +2°C to +8°C

Specimen:

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.



Warning! R2 contains hazardous components.

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

Serum/plasma

Icterus: No significant interference up to an index I of 13 (approximate conjugated and unconjugated bilirubin concentration 13 mg/dl)

Hemolysis: No significant interference up to an Index H of 1100 (approximate hemoglobin concentration: 1100 mg/dl).

Lipemia (Intralipid): No significant interference up to an index L of 225 (approximate triglycerides concentration: 450 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:

Applications for automated systems are available on request.

Materials provided

• Working solutions as described above

Additional materials required

- Controls as indicated below
- 0.9% NaCl

Manual procedure:

Wavelength:	340 nm, Hg 334 nm
Temperature:	+25 / +37°C
Cuvette:	1 cm light path
Zero adjustment:	air or distilled water

+25°C Semi-Micro

Sample or calib./stand.	40 µl
Working sol.	1000 µl

+37°C Semi-Micro

Sample or calib./stand.	20 µl
Working sol.	1000 µl

Mix and read A₁ after exactly 90 sec. and read A₂ after additional 120 sec.

Calculation:

$$\frac{\Delta A \text{ sample}}{\Delta A \text{ calib./stand.}} \times \text{Calib./stand. conc.} = \text{conc. Urea in mg/dl}$$

$$\text{mg/dl Urea} \times 0,467 = \text{mg/dl Urea-N}$$

Measuring /reportable range:

Up to 400 mg/dl (66.6 mmol/l)

Expected values:

Serum/Plasma

10 - 50 mg/dl (1.7 - 8.3 mmol/l) Urea

6 - 20 mg/dl Urea - Nitrogen

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 GmbH1997).

24 hour urine

10 - 35 g/24h (170 - 580 mmol/l/24h) corresponding to 670 - 2300 mg/dl*

(110 - 390 mmol/l)* Urea

12 - 20/24h g Urea - N corresponding to 800-1666 mg/dl

* Based on average urine output of 1.5/24h

The expected values are influenced by daily intake 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: 5 mg/dl or 0.83 mmol/l

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

UREA HL

UREA HIGH LINEARITY



Imprecision:

serum

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

within run			
Sample	Mean mg/dl	SD mg/dl	CV %
Human serum	42.53	1.78	4.19
Contronorm	103.80	2.88	2.77
Controptath	150.40	3.80	2.53

Between day			
Sample	Mean mg/dl	SD mg/dl	CV %
Human serum	41.98	1.31	3.12
Contronorm	150.68	5.61	3.72
Controptath	554.92	27.12	4.89

Method comparison:

A comparison of the Analyticon UREA-HL (y) with a commercial obtainable assay (x) gave the following result:

$$y = 1.009x - 0.144; \quad r = 0.999$$

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® E	10 x 3 ml	#1430
Bio Cal®	20 x 3 ml	#1420

R4: calibrator provided in kit

Disposal:

Please note the legal regulations.

Literature:

- Berthelot MPE Repert 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 CJ. 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
- Tietz NW. Clinical Guide to Laboratory Tests 3rd ed. Philadelphia, Pa. WB Saunders Company. 1995:622 - 629
- 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.

Bestellinformation:

Katalog-Nr.	Inhalt
4905	R1 4 x 50ml R2 4 x für 50 ml
	R4 1 x 5 ml
4901	R1 4 x 100ml R2 4 x für 100 ml
	R4 1 x 5 ml

Anwendungszweck:

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

Zusammenfassung:

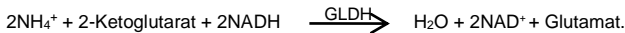
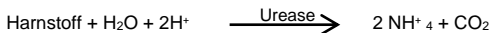
Die Bestimmung von Harnstoff ist der am weitesten verbreitete Test zur Bewertung der Nierenfunktion. Der Test wird häufig zusammen mit der Creatininbestimmung angewendet und dient zur Differenzialdiagnose von prärenal (Herzsuffizienz, Wasserausscheidung, erhöhter Proteinkatabolismus), renal (Glomerulonephritis, chronische Nephritis, polycystische Niere, tubuläre Nekrose) und postrenal (Verstopfung der Harnwege) Hyperurämie.

Harnstoff ist das Endprodukt des Eiweiß- und Aminosäurestoffwechsels. Beim Eiweißabbau werden die Proteine in Aminosäuren zerlegt und desaminiert. Das dabei gebildete Ammoniak wird in der Leber zu Harnstoff synthetisiert. Dies stellt den wichtigsten Abbaupfad 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 Nesslers 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).

Testprinzip:

Vollenzymatischer UV-Test nach der Urease/GLDH-Methode mit Extinktionsabnahme. Harnsäure wird durch Urease zu Ammonium und CO₂ hydrolysiert. Das entstandene Ammonium reagiert im Beisein von GLDH mit 2-Ketoglutarat und NADH zu NAD und Glutamat.



Die durch Verringerung der NADH-Konzentration bedingte Abnahme der Extinktion ist proportional zur Konzentration von Harnstoff in der Probe.

Konzentration der gebrauchsfertigen Lösung:

R1:
Tris Puffer pH 8.0 80 mmol/l
2-Oxoglutarat 15 mmol/l

R2:
GLDH 6000 U/l
NADH 0,32 mmol/l
Urease > 100 U/ml

R4:
Harnstoff 50 mg/dl

Herstellung und Haltbarkeit:

Ungeöffnete Flaschen sind bei 2–8°C gelagert bis zum Ende des Haltbarkeitsdatums stabil.

Den Inhalt einer Flasche R2 mit der entsprechenden Menge R1 lösen und 20 Minuten mischen. Das Arbeitsreagenz ist bei +20°C/+25°C 5 Tage bei + 2°C/+ 8°C 28 Tage haltbar.

Untersuchungsgut:

Serum, entnommen mit Standard-Probenentnahmeröhrchen.
Li-, Heparin, Na-Heparin, oder K-EDTA-Plasma (kein Ammonium-Heparinat)
Haltbarkeit: bei +20 bis +25°C 7 Tage
bei + 2 bis + 8°C 7 Tage
bei -20°C 1 Jahr

Proben, die Präzipitate enthalten, müssen vor dem Test zentrifugiert werden.

Hinweis:

In vitro Diagnostikum.



Warnung! R2 enthält Gefahrstoffe.

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 innerhalb ± 10% vom Ausgangswert.

Serum/Plasma

Ikterus: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index I von 13 (Konzentration konjugiertes Bilirubin und unkonjugiertes Bilirubin 13 mg/dl).

Hämolyse: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index H von 1100 (ca. 1100 mg/dl Hämoglobin)

Lipämie (Intralipid): Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index L von 225 (ca. 450 mg/dl Triglyceride). Es besteht keine zufriedenstellende Übereinstimmung zwischen Trübung und Triglycerid-Konzentration.

Ammoniak das bei der GLDH- oder Lactat UV-Test-Bestimmung in der Küvette entsteht, stört die Harnstoff/Harnstoff-N-Bestimmung. Das Harnstoff/UV- Reagenz darf deshalb nicht zusammen mit GLDH- oder Lactat UV-Test-Reagenz auf den Geräten installiert werden. Im Urin wird die Harnstoff/Harnstoff-N- Bestimmung durch endogene Ammoniumionen gestört. Erhöhte Konzentrationen können bei Säurebelastung (z.B. Acidose) auftreten.

Um Kontaminationen von Ammoniak auf Proben und Kalibratoren für die Harnstoff/Harnstoff-N-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:

Applikationen für automatisierte Systeme sind auf Anfrage erhältlich.

Delieferte Materialien

• Gebrauchsfertige Lösungen wie vorher angegeben. *Zusätzlich*

benötigte Materialien

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

Manuelle Testdurchführung:

Wellenlänge:	340 nm, Hg 334 nm
Reaktionstemperatur:	+25/+37°C
Schichtdicke:	1 cm
Messung:	Luft oder dest. Wasser

+25°C Semi-Micro

Probe oder Standard	40 µl
Arbeitsreagenz	1000 µl

+37°C Semi-Micro

Probe oder Standard	20 µl
Arbeitsreagenz	1000 µl

Mischen. Nach genau 90 Sec. E₁ ablesen, nach weiteren 120 Sek. E₂ messen.

Berechnung:

$$\frac{\Delta E \text{ Probe}}{\Delta E \text{ Kalib./Stand.}} \times \text{Kalib./Standardkonz.} = \text{Ureakonz. in mg/dl}$$

$$\text{mg/dl Harnstoff} \times 0,467 = \text{mg/dl Harnstoff-N}$$

Messbereich:

bis 400 mg/dl (66,6 mmol/l) Harnstoff oder 186mg/dl Harnstoff-N

Referenzbereich:

Serum/ Plasma

10 - 50 mg/dl (1,7 - 8,3 mmol/l) Harnstoff

6 - 20 mg/dl Harnstoff-N

Referenzbereiche für Kinder bitte der Broschüre "Referenzbereiche für Kinder und Erwachsene, Präanalytik" entnehmen. Heil W, Koberstein R, Zawta B (Hrsg. Boehringer Mannheim GmbH 1997).

24-Stunden-Urin

10 - 35 g/24h (170 - 580 mmol/24h) entsprechend 670 - 2300 mg/dl*

(110 - 390mmol/l)* Harnstoff

12 - 20 g/24h Harnstoff-N entsprechend 800-1666 mg/dl*

* berechnet aus einem Urinvolumen von 1,5l / 24h

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-N-Ergebnisse stets im Zusammenhang mit der Anamnese, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.

Sensitivität (analytische Nachweisgrenze):

5 mg/dl bzw. 0,83 mmol/l Harnstoff

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

UREA HL

HARNSTOFF HOHE LINEARITÄT



Impräzision:

Serum

Die Reproduzierbarkeit wurde mit Kontrollproben bestimmt und ergab folgende Ergebnisse:

Probe	In der Serie		
	MW mg/dl	SD mg/dl	VK %
Humanserum	42,53	1,78	4,19
Contronorm	103,80	2,88	2,77
Controptath	150,40	3,80	2,53

Probe	Tag / Tag		
	MW mg/dl	SD mg/dl	VK %
Humanserum	41,98	1,31	3,12
Contronorm	150,68	5,61	3,72
Controptath	554,92	27,12	4,89

Methodenvergleich:

Bei einem Vergleich von Analyticon UREA-HL (y) mit einem kommerziell erhältlichen Test (x) wurden folgende Ergebnisse erhalten:

$$y = 1,009x - 0,144; \quad r = 0,999$$

Qualitätskontrolle:

Humane Kontrollseren:

Contronorm® Plus	5 x 5 ml	#1205
	20 x 5 ml	#1220
Controptath® 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.

Kalibration:

S1: 0.9% NaCl

S2: Bio Cal® E	10 x 3 ml	#1430
Bio Cal®	20 x 3 ml	#1420

R4: Kalibrator in Kit enthalten

Entsorgung:

Bitte beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

Literatur:

- Berthelot MPE Repert 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
- Tietz NW. Clinical Guide to Laboratory Tests 3rd ed. Philadelphia, Pa. WB Saunders Company. 1995:622 - 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.

