

Order information:

Catalog No.	Contents					
4705	R1	4 x	50 ml	R2	4 x	10 ml
	R4	1 x	5 ml			

Intended use:

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

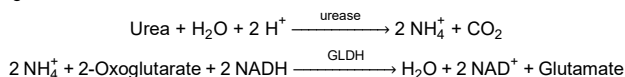
Summary:

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-UV 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 the decrease of NADH concentration in unit time is proportional to the urea concentration.

Reagent concentration:

R1:	
Tris buffer pH 8.0	50 mmol/l
2-oxoglutarate	15 mmol/l
Urease	≥ 1000 U/l
GLDH	≥ 6000 U/l
R2:	
NADH	0.18 mmol/l
R4:	
Urea	50 mg/dl (8.325 mmol/l)

Preparation and stability:

R1: ready for use
 R2: ready for use
 R4: ready for use
 The reagents are stable up to the expiry date on the label when stored at 2-8°C.
 Onboard stability: R1 28 days
 R2 28 days

Alternatively the reagent can be used as single reagent (manual procedure). Mix 5 volumes enzyme reagent/R1 with one volume starting buffer /R2. The working solution is stable up to:

14 day	at + 2°C to +8°C
3 days	at +20°C to +25°C

Specimen:

Serum
 Collect serum using standard sampling tubes. Heparin, citrated plasma.
 Stability: 7 days at +20°C to +25°C
 7 days at +2°C to +8°C
 1 year at -20°C

Urine
 Urine diluted 1:50 with distilled water.
 Collect urine without using preservatives.
 Stability: 2 days at +20°C to +25°C
 7 days at +2°C to +8°C
 1 month 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:

Ammonia produced on the cuvette during a GLDH or lactate UV determination interferes with the urea-UV assay. The urea-UV 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-UV 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

Manual procedure		
Wavelength:	340nm, Hg 334 nm	
Temperature:	+25°C or +37°C	
Cuvette:	1 cm light path	
Zero adjustment:	distilled water	
	Standard/Calibrator	Sample
Working reagent	1000 µl	1000 µl
Standard R4	10 µl	----
Sample	----	10 µl
Mix, and read A ₁ after exactly 30 sec., read A ₂ after additional 60 sec.		
Calculation:		
Determine the absorbance change as		
ΔA sample = [A ₁ (sample) – A ₂ (sample)]		
ΔA calibrator = [A ₁ (calibrator)– A ₂ (calibrator)]		
and use this for calculation.		
$\frac{\Delta A \text{ sample}}{\Delta A \text{ calibrator}} \times \text{calibrator conc.} = \text{Urea conc. (mg/dl)}$		

Measuring/reportable range

Kinetic measuring: linear up to 400 mg/dl (66.7 mmol/l)
 Conversion in 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

Expected values:

Serum
 15 – 45 mg/dl (1.7 – 8.3 mmol/l) urea
 4.7 – 2300 mg/dl (31.1-15.3 mmol/l) 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 GmbH 1997).

24-hour urine
 20 – 36 g/l (333 – 600 mmol/l) urea
 9.4 – 16.9 g/l (6.3-11.3 mmol/l) urea-nitrogen

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: 0.5 mg/dl
 The lower detection limit represents the lowest measurable urea activity that can be distinguished from zero.

Imprecision:

Urea

Reproducibility was determined using human samples and controls between day. The following results were obtained:

Serum

Between day			
Sample	Mean mg/dl	SD mg/dl	CV %
Human serum	31	1.1	3.4
Contronorm	50	0.9	1.8
Controptath	145	1.6	1.1

Urine

Between day			
Sample	Mean mg/dl	SD mg/dl	CV %
Human serum	692	13.1	1.9
Contronorm	1753	25.6	1.5
Controptath	1813	23.9	1.3

Urea-N

Reproducibility was determined using human samples and controls between day. The following results were obtained:

Serum

Between day			
Sample	Mean mg/dl	SD mg/dl	CV %
Human serum	17	0.56	3.3
Contronorm	20	0.50	2.4
Controptath	66	0.82	1.2

Urine

Between day			
Sample	Mean mg/dl	SD mg/dl	CV %
Human serum	568	17.94	3.2
Contronorm	500	3.68	0.7
Controptath	769	10.58	1.4

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:

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, 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
4705	R1 4 x 50 ml R2 4 x 10 ml
	R4 1 x 5 ml

Anwendungszweck:

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

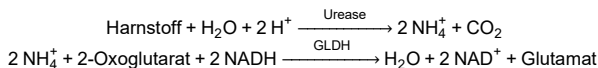
Zusammenfassung:

Die Bestimmung von Harnstoff ist der am weitesten verbreitete Test zur Bewertung der Nierenfunktion. Der Test wird häufig zusammen mit der Creatininbestimmung angewendet 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 Abbauweg 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 Analyticon Urea-UV 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:	
Tris Puffer pH 8.0	50 mmol/l
2-Oxoglutarat	15 mmol/l
Urease	≥ 1000 U/l
GLDH	≥ 6000 U/l
R2:	
NADH	0.18 mmol/l
R4:	
Harnstoff	50 mg/dl (8.325 mmol/l)

Herstellung und Haltbarkeit:

R1: Inhalt ist gebrauchsfertig.
 R2: Inhalt ist gebrauchsfertig.
 R4: Inhalt ist gebrauchsfertig.
 Ungeöffnete Packungsbestandteile sind bei +2°C bis +8°C bis zum aufgedruckten Verfallsdatum haltbar.
 Onboard Stabilität: R1 28 Tage
 R2 28 Tage

Bei Bedarf (manueller Testdurchführung) kann können R1 und R2 zu einem Mono-reagenz kombiniert werden. Dazu werden 5 Teile Enzymreagenz/R1 mit einem Teil Starter/R2 gemischt. Das Arbeitsreagenz ist stabil:

14 Tage	bei +2 bis +8°C
3 Tage	bei +20 bis +25°C

Untersuchungsgut:

Serum, entnommen mit Standard-Probenentnahmeröhrchen. Heparin oder Citrat-Plasma.

Haltbarkeit:	7 Tage	bei +20 bis +25°C
	7 Tage	bei +2 bis +8°C
	1 Jahr	bei -20°C

Urin

Urin ohne Zusatz von Konservierungsstoffen sammeln und 1:50 mit dest. Wasser verdünnen

Haltbarkeit:	2 Tage	bei +20 bis +25°C
	7 Tage	bei +2°C bis +8°C
	1 Monat	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:

Ammoniak das bei der GLDH- oder Lactat UV-Test-Bestimmung in der Küvette entsteht, stört die Harnstoff/Harnstoff-Stickstoff- 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-Stickstoff-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-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%)

Manuelle Testdurchführung:

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

	Standard/Kalibrator	Probe
Arbeitsreagenz	1000 µl	1000 µl
R4	10 µl	---
Probe	---	10 µl

Mischen, und nach genau 30 Sek Extinktion ablesen (E₁) und gleichzeitig Stoppuhr starten. Erneute Ablesung nach genau 60 Sekunden (E₂).

Berechnung:

Die Extinktionsänderung folgendermaßen bestimmen:

$$\Delta E \text{ Probe} = [E_1 (\text{Probe}) - E_2 (\text{Probe})]$$

$$\Delta E \text{ Standard} = [E_1 (\text{Standard}) - E_2 (\text{Standard})]$$

Und diese Werte für die Berechnung benutzen.

$$\frac{\Delta E \text{ Probe}}{\Delta E \text{ Kalibrator}} \times \text{Kalibrator Konz.} = \text{Harnstoff Konz. (mg/dl)}$$

Messbereich:

Kinetische Methode: linear bis 400 mg/dl (66,7 mmol/l)

Umrechnung in SI-Einheiten, Verhältnis zwischen Harnstoff und Harnstoff-Stickstoff:

$$\text{mg/dl} \times 0,166 = \text{mmol/l (Harnstoff)}$$

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

Referenzbereich:

Serum

15 - 45mg/dl (1,7 – 8,3 mmol/l) Harnstoff

4,7 – 2300 mg/dl (31,1-15,3 mmol/l) Harnstoff - Stickstoff

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

20 – 36 g/l (333 – 600 mmol/l) Harnstoff

9,4 – 16,9 g/l (6,3-11,3 mmol/l) Harnstoff – Stickstoff

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):

0,5 mg/dl

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



Impräzision:

Urea

Die Reproduzierbarkeit wurde mit humanen Proben und Kontrollen bestimmt und ergab folgende Ergebnisse:

Serum

	Tag/Tag		
Sample	MW mg/dl	SD mg/dl	CV %
Humanserum	31	1,1	3,4
Contronorm	50	0,9	1,8
Controptath	145	1,6	1,1

Urin

	Tag/Tag		
Sample	MW mg/dl	SD mg/dl	CV %
Humanserum	692	13,1	1,9
Contronorm	1753	25,6	1,5
Controptath	1813	23,9	1,3

Urea-N

Die Reproduzierbarkeit wurde mit humanen Proben und Kontrollen bestimmt und ergab folgende Ergebnisse:

Serum

	Tag/Tag		
Sample	MW mg/dl	SD mg/dl	CV %
Humanserum	17	0,56	3,3
Contronorm	20	0,50	2,4
Controptath	66	0,82	1,2

Urine

	Tag/Tag		
Probe	MW mg/dl	SD mg/dl	CV %
Humanserum	568	17,94	3,2
Contronorm	500	3,68	0,7
Controptath	769	10,58	1,4

Qualitätskontrolle:

Humanes Kontrollserum:

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:

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

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 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. 1995:622 - 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.

