Harnstoff

Reagenz zur quantitativen In-vitro-Bestimmung von Harnstoff im Blut

HST 321

Best. Nr. **HST 321**
Inhalt: 20 Tests
20 Pipettenspitzen, 500µL

Methode
Berthelot modifiziert
Bestimmung im verdünnten Plasma nach Abtrennung der Erythrocyten durch Zentrifugation

Probenmaterial
Kapillarblut oder EDTA-Blut (frisch);
Kapillarblut sofort in das Reaktionsgefäß „R“ geben.
Haltbarkeit der Probe im Reaktionsgefäß “R”:
6 Stunden (+15°C bis +25°C)

Reagenz
Inhalt / Konzentrationen:
1. Startregenz (Kappen in der PE-Flasche)
   Dichlorisocyanursäure Natriumsalz 3,4 mmol/L,
   Nitroprussid Natrium 2,9 mmol/L
2. Pufferlösung (vorportioniert in Rundküvetten)
   tri-Natriumcitrat 118 mmol/L, Natriumsalicylat 217 mmol/L,
   Natriumhydroxid 32 mmol/L
3. Enzymlösung (Reaktionsgefäße “R”)
   Urease >20 kU/L, Natriumchlorid 9 g/L, Natriumazid < 0,1%

Sicherheitshinweis
Das Startreagenz enthält Natrium Nitroprussid (< 0,5%). Gesundheitsschädlich beim Verschlucken. Die Pufferlösung enthält Natriumhydroxid (< 0,2%). Reizt die Augen und die Haut. Bei Berührung mit den Augen sofort mit Wasser abspülen. Die Enzymlösung enthält Natriumazid (< 0,1 %). Verschlucken, Berührung mit der Haut und Schleimhäuten vermeiden.
Ein Sicherheitsdatenblatt wird auf Anforderung zur Verfügung gestellt.[1)]

Lagerung und Haltbarkeit
Die Reagenzien sind im Dunkeln bei +2°C bis +8°C bis zu dem auf der Packung angegebenen Verfalldatum haltbar

Messbedingungen

Messgeräte:	Diaglobal Photometer
Messwellenlängen:	520 nm, 546 nm
Temperatur:	Raumtemperatur
Zusätzlich erforderlich:	Minizentrifuge

Messbereich
10 - 100 mg/dL (1,7 – 16,7 mmol/L)
Bei höheren Werten Bestimmung mit 10 µL Probe wiederholen oder Probe 1+1 mit Kochsalzlösung verdünnen. Ergebnis x 2.

Hinweise
1. Der Test wird durch Ammoniak gestört. Es darf während der Bestimmung nicht geraucht werden.
2. Die Minizentrifuge muss - wie in der Bedienungsanleitung angegeben - gleichmäßig ausgelastet werden.

Arbeitsanleitung
A. Einfachbestimmung
- 20µL Kapillarblut mit end-to-end-Kapillare aus der Fingerbeere oder dem Ohrläppchen entnehmen und diese in das Reaktionsgefäß “R” stellen
- Durch kräftiges Schütteln das Blut aus der Kapillare in die Reagenzlösung überführen
- Reaktionsgefäß „R“ in die Minizentrifuge einsetzen und eine Minute zentrifugieren
- 500µL Überstand mit Pipette entnehmen, in eine Rundküvette pipettieren (Leerwert-Küvette)
- Test <HST> anwählen
- Leerwert-Küvette einsetzen (Nullpunkteinstellung)
- Leerwert-Küvette entfernen
- Auf Leerwert-Küvette Kappe mit Startreagenz aus der PE-Flasche aufschrauben und kräftig mischen (Analysen-Küvette)
- [ON/ENTER] drücken und sofort die Analysen-Küvette in das Photometer einsetzen.
- Ergebnis nach 10 Minuten ablesen

B. Serienmessung (bis zu 20 Proben)
- Test <HST> anwählen
- Leerwert-Küvetten nacheinander in das Photometer einsetzen und die Nullpunkte einstellen
- Auf alle Leerwert-Küvetten Kappen aus der PE-Flasche mit Startreagenz aufschrauben und gleichzeitig kräftig mischen (Analysen-Küvetten)
- [ON/ENTER] drücken und sofort die erste Analysen-Küvette in das Photometer einsetzen. Das Ergebnis wird nach 10 Minuten angezeigt.
- Alle weiteren Analysen-Küvetten in der gleichen Reihenfolge wie die der Leerwert-Küvetten in das Photometer einsetzen. Die jeweiligen Ergebnisse werden sofort angezeigt.

Berechnung
Die Methode wurde mit Vollblut kalibriert. Die Berechnungsformel ist in den Diaglobal Photometern gespeichert. Werden Human- oder Kontrollseren (Ringversuchsproben) eingesetzt, ist der angezeigte Wert bei Messungen mit dem DP 300 mit 0,75 und bei Messungen mit dem DP 310 mit 0,73 zu multiplizieren.

Qualitätssicherung
Für die Qualitätssicherung empfehlen wir die Universal Kontrollseren der Firma Roche, www.roche.de:
PreciControl ClinChem Multi 1 / Multi 2 (4 x 5 mL)
Order-No.: 05 947 626 190 / 05 947 774 190
Ref.: Roche / Hitachi analyzers, Method: kinetic UV

Referenzwerte[2)]

Serum, Plasma	mg/dL	mmol/L
Männer < 50 Jahre	19 - 44	3,2 - 7,3
Männer > 50 Jahre	18 - 55	3,0 - 9,2
Frauen < 50 Jahre	15 - 40	2,8 - 7,2
Frauen > 50 Jahre	21 - 43	2,6 - 6,7
Kinder bis 13 Jahre	11 - 36	1,8 - 6,0
Kinder bis 19 Jahre	18 - 45	2,9 - 7,5

Zusammenfassung
Harnstoff ist das Endprodukt des Protein- und Aminosäureabbaus, der sich in der Leber vollzieht. Die Ausscheidung erfolgt durch glomeruläre Filtration über die Nieren. Die Harnstoffkonzentration im Serum ist abhängig von der Nierenfunktion, der Nierendurchblutung, dem Harnvolumen und der Proteinzufuhr mit der Nahrung. Bei Nierenerkrankungen treten erhöhte Harnstoffwerte auf, wenn die glomeruläre Filtrationsrate stark vermindert ist und die Proteinaufnahme einen Wert von 200 g/Tag überschreitet.

Indikationen / Diagnostische Bedeutung[2,3)]
- Diagnose und Verlaufskontrolle der Niereninsuffizienz
- Überwachung der Diät bei konservativer Therapie der chronischen Niereninsuffizienz
- Differentialdiagnose komatöser Zustände

Im Sportbereich[4)] kommt es bei Langzeitbelastungen zu einem Anstieg des Serumharnstoffspiegels, da die Muskelzellen ihren Energiebedarf nach Leerung der Glycogenspeicher verstärkt aus dem Aminosäureabbau decken. Die Bestimmung des Serum-Harnstoffspiegels ermöglicht daher eine Steuerung der Belastung (Regeneration) während des Trainings und nach Wettkämpfen.

Zur Harnstoff-Bestimmung werden heute ausnahmslos enzymatische Methoden eingesetzt, die auf der Spaltung von Harnstoff mittels Urease beruhen. Der Diaglobal-Farbtest HST 321 wurde speziell für Vor-Ort-Untersuchungen entwickelt und ermöglicht eine direkte Bestimmung der Harnstoffkonzentration im Plasma. Als Probenmaterial wird Kapillar- oder venöses Blut eingesetzt.

Messprinzip
Die Probe wird mit einer ureasehaltigen Kochsalzlösung verdünnt und kurz zentrifugiert. Hierbei werden die Erythrocyten separiert. Gleichzeitig erfolgt eine Spaltung des Harnstoffs. Das entstehende NH_3 wird mit Salicylat und einem Chlorierungsmittel zu einem grünen Farbstoff umgesetzt (modifizierte Berthelot-Reaktion[5)]), der bei 546 nm bzw. 520 nm gemessen werden kann.

$$\text{Harnstoff} + H_2O + 2H^+ \xrightleftharpoons{\text{Urease}} 2\,NH_4^+ + CO_2$$

$$NH_4^+ + \text{Salicylat} + \text{Dichlorisocyanurat} \rightarrow \text{Indaminfarbstoff}$$

Leistungsmerkmale
Spezifität / Interferenzen[6)]
Keine Störungen durch Ascorbinsäure, Glucose und andere reduzierende Substanzen. Werte unabhängig vom Hämatokrit. Interferenzen durch Arzneimittel sind nicht bekannt.

Unpräzision
Die Reproduzierbarkeit wurde mit Human- und Kontrollproben überprüft.

In der Serie [n = 20]	Mittelwert [mg/dL]	Standard-Abweichung [mg/dL]	VK [%]
Probe 1	19,0	1,01	5,3
Probe 2	138	4,41	3,2
Von Tag zu Tag* [n = 20]	Mittelwert [mg/dL]	Standard-Abweichung [mg/dL]	VK [%]
Probe 1	56,0	1,46	2,6

* Kontrollprobe

Analytische Sensitivität
Untere Nachweisgrenze: 5 mg/dL (0,8 mmol/L)

Methodenvergleich
Ein Vergleich des Diaglobal-Tests HST 321 (y) mit dem Diaglobal-UV-Test HST 013 (x) ergab nach dem Verfahren von Passing/Bablok[7)] die Korrelation:
y = 1,030x - 0,678
r = 0,997
n = 80
Konzentrationsbereich: 19 - 200 mg/dL

Literatur

1. http://www.diaglobal.de/de/service/downloads/index.html
2. Thomas L. Labor und Diagnose. 4.Aufl. Marburg: Die Medizinische Verlagsgesellschaft 1995: 462
3. Rick W. Klinische Chemie und Mikroskopie. 6.Aufl.. Berlin Heidelberg: Springer Verlag 1972: 245
4. Neumann G, Pfützner A, Hottenrott K. Alles unter Kontrolle. 6.Aufl. Aachen: Meyer und Meyer Verlag 2000: 148
5. Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1999:1038
6. Sonntag O. Arzneimittelinterferenzen. Stuttgart, New York: Thieme Verlag, 1985:47
7. Passing H, Bablok W. A new biometric procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. J Clin Chem Clin Biochem. 1983; 21:709-720