

Best. Nr. HSR 342
Inhalt: 40 Tests

Methode^{1,2)}
 Enzymatischer Farbstest, Uricase-PAP-Methode

Probenmaterial
 Serum, Heparin- oder EDTA-Plasma
 Haltbarkeit der Harnsäure im Serum/Plasma
 bei +2°C bis +8°C: 5 Tage
 bei +15°C bis +25°C: 3 Tage

Reagenz
 Inhalt / Konzentrationen:
 1. Startreagenz (Kappen in der PE-Flasche)
 Uricase > 500 U/L, Peroxidase (POD) > 750 U/L,
 4-Aminophenazon 0,23 mmol/L
 2. Pufferlösung (vorportioniert in Rundküvetten)
 4-Chlorphenol 1,8 mmol/L, Natriumazid < 0,1 %,
 Triton X-100 < 1%, PIPES-Puffer pH 7,8 20 mmol/L,
 nichtionisches Detergenz 7g/L,
 Natriumcholat 2,5 g/L

Sicherheitshinweis
 Die Pufferlösung (Rundküvette) enthält Natriumazid (< 0,1 %) und Triton X-100 (< 1%). Verschlucken, Berührung mit der Haut und Schleimhäuten vermeiden. Ein Sicherheitsdatenblatt wird auf Anforderung zur Verfügung gestellt.³⁾

Lagerung und Haltbarkeit
 Die Reagenzien sind bei +2°C bis +8°C bis zu dem auf der Packung angegebenen Verfalldatum haltbar. Vor Sonnenstrahlung und starker Lichteinwirkung schützen. Schraubkappen erst unmittelbar vor der Messung aus dem Behälter entnehmen.

Messbedingungen
 Messgeräte: Vario Photometer

Messwellenlänge: 546nm
 Temperatur: Raumtemperatur

Messbereich
 0,4 - 20 mg/dL (24 - 1190 µmol/L)
 Bei höheren Konzentrationen Probe 1+1 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnen (Ergebnis x 2).

Arbeitsanleitung

In Rundküvette pipettieren:	
	Analyse
Serum / Plasma	100 µL
Gut mischen. 10 Minuten bei Raumtemperatur stehen lassen. Innerhalb von 10 Minuten messen.	

- Test <HSR 342> anwählen.
- Unbearbeitete Küvette in das Photometer einsetzen (Nullpunkteinstellung).
- Nach dem Signalton Küvette entfernen.
- Kappe aus der PE-Flasche auf die Küvette mit Probe (Analyseküvette) aufschrauben und Startreagenz durch mehrmaliges Kippen lösen.
- 10 Minuten bei Raumtemperatur stehenlassen.
- Analysenküvette einsetzen und Ergebnis ablesen.

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: plus (Uricase - PAP)

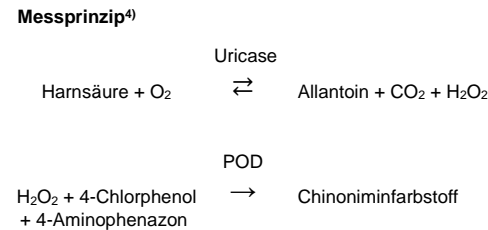
Referenzwerte
 Serum / Plasma⁴⁾

	mg/dL	µmol/L
Frauen	2,4 - 5,7	143 - 339
Männer	3,4 - 7,0	202 - 416
24 Stdn-Harn ⁷⁾ : 0,25 - 0,75 g bzw. 1,49 - 4,46 mmol		

- Hinweise**
- Im Kühlschranks gelagerte Reaktionslösung vor Gebrauch auf Raumtemperatur bringen.
 - Bei hämolytischen oder stark lipämischen Seren empfiehlt es sich, den Proben-Leerwert zu berücksichtigen: Für die Einstellung des Nullpunktes wird dann anstelle der Leerwertküvette die Analysenküvette, die bereits das Probenmaterial enthält, verwendet. Anschließend wird die Reaktion mit der Kappe gestartet.

Zusammenfassung
 Harnsäure ist das Endprodukt des Purinstoffwechsels und wird im Organismus durch Abbau von endogenen und exogenen (mit der Nahrung aufgenommenen) Purinen gebildet. Die Ausscheidung erfolgt zu ca. 80 % über die Niere. Bei erhöhten Serum-Harnsäure-spiegeln kristallisiert die gelöste Harnsäure aus und lagert sich im Gewebe ab.^{4,5)}

Zur Bestimmung werden heute ausschließlich enzymatische Methoden eingesetzt, die auf der Harnsäureoxidation mittels Uricase beruhen. Die Abnahme der Harnsäure-Konzentration kann spektral-photometrisch gemessen werden (UV-Test). In der Routine haben sich die PAP-Methoden bewährt, die die Trinder-Reaktion (Umsetzung des in der Uricase-Reaktion gebildete H₂O₂ zu einem Farbstoff) beinhalten. Dieses Messprinzip liegt auch dem Diaglobal-Farbstest zugrunde.



Die Konzentration des Chinoniminfarbstoffs ist der Harnsäurekonzentration im Serum / Plasma proportional und wird photometrisch bei 546 nm gemessen.

Leistungsmerkmale
Spezifität / Interferenzen⁶⁾
 Keine Störung durch Bilirubin (< 20 mg/dL), schwache Lipämie (Triglyceride < 1000 mg/dL) und Ascorbin-säure in physiologischen Konzentrationen (< 20 mg/L). Hämoglobin täuscht erhöhte Werte vor, sofern kein Proben-Leerwert berücksichtigt wird.
 Arzneimittelinterferenzen: Erniedrigte Werte durch Methyl dopa (> 3 mg/L) und Gentsinsäure (> 15 mg/L) in Konzentrationen oberhalb des therapeutischen Bereichs.

Unpräzision
 Die Reproduzierbarkeit wurde mit Human- und Kontrollproben überprüft.

In der Serie [n = 20]	Mittelwert [mg/dL]	Standard-Abweichung [mg/dL]	VK [%]
Probe 1	4,29	0,10	2,3
Probe 2	9,77	0,16	1,6
Von Tag zu Tag [n = 20]	Mittelwert [mg/dL]	Standard-Abweichung [mg/dL]	VK [%]
Probe 1	4,31	0,12	2,7
Probe 2	9,71	0,19	1,9

Analytische Sensitivität
 Untere Nachweisgrenze: 0,4 mg/dL (24 µmol/L)

Methodenvergleich
 Ein Vergleich des Diaglobal-Tests HSR 342 (y) mit einem anderen, auf der Uricase-PAP-Methode basierenden, kommerziell erhältlichen Test (x) ergab nach dem Verfahren von Passing-Bablok⁷⁾ die Korrelation:
 $y = 0,871x + 0,791$
 $r = 0,994$

n = 45
 Konzentrationsbereich: 2,0 - 16 mg/dL

Hinweise zur Entsorgung
 Abfallschlüsselnummer 180106:
 Küvetten mit Reagenz gelten als Sonderabfall. Reagenz nicht in Oberflächenwasser oder die Kanalisation gelangen lassen.
 Entsorgung gemäß den behördlichen Vorschriften. Nichtkontaminierte und restentleerte Verpackungen können einer Wiederverwertung zugeführt werden.

Literatur

1. Henry RJ et al. Clinical Chemistry. 2nd rev. ed. New York: Harper & Row. 1974:541
2. Fossati P, Precipe L, Berti G. Clin Chem 1980;26:227
3. <http://www.diaglobal.de/de/service/downloads/index.html>
4. Thomas L. Labor und Diagnose. 4.Aufl. Marburg: Die Medizinische Verlagsgesellschaft 1995: 247
5. Rick W. Klinische Chemie und Mikroskopie. 6.Aufl. Berlin Heidelberg: Springer Verlag 1972: 250
6. Sonntag O. Arzneimittelinterferenzen. Stuttgart, New York: Thieme Verlag, 1985:43
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

Order No. HSR 342
Content: 40 tests

Method ^{1,2)}
 Enzymatic colorimetric test, Uricase-PAP method

Sample material
 Serum, heparinised or EDTA plasma
 Stability of uric acid in serum/plasma
 at +2°C to +8°C: 5 days
 at +15°C to +25°C: 3 days

Reagent
 Contents / concentrations:
 1. Starter reagent (caps in PE-bottle)
 Uricase > 500 U/L, Peroxidase (POD) > 750 U/L,
 4-Aminophenazone 0.23 mmol/L
 2. Buffer solution (pre-portioned in round cuvettes)
 4-Chlorophenol 1.8 mmol/L, Sodium azide < 0.1 %;
 Triton X-100 < 1%, PIPES-buffer pH 7.8, 20 mmol/L,
 nonionic detergent 7g/L, Natriumcholate 2.5 g/L

Safety information
 The buffer solution (round cuvette) contains Sodium azide (<0.1 %) and Triton X-100. Do not swallow and avoid contact with skin and mucous membranes. If desired a safety data sheet will be provided.³⁾

Storage and shelf life
 Reagents can be kept at a temperature between +2°C and +8°C until the expiry date indicated on the packaging. Protect from direct sunlight and strong light.

Measurement conditions
 Measurement devices: Vario Photometer
 Dr. Lange Photometer
 Meas. wavelength: 546nm
 Temperature: Room temperature

Measurement range
 0.4 - 20 mg/dL (24 - 1190 µmol/L)
 In case of exceeding these values, dilute the sample 1+1 with physiological saline solution. Multiply the result by 2.

Working instructions

Pipette into round cuvette:	
	Analysis
Serum / plasma	100 µL
Mix thoroughly. Leave it at room temperature for 10 minutes. Measure within 10 minutes.	

- Select the <UA 342> test.
- Set the photometer's zero point using a non-processed round cuvette (blank value).
- Remove cuvette after signal tone.
- Screw the cap from PE-bottle onto the cuvette with sample (analysis cuvette), dissolve the starter reagent by inverting several times.
- Leave it at room temperature for 10 minutes.
- Insert analysis cuvette, read the result.

Quality assurance

For quality assurance we recommend universal control sera from company 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: plus (Uricase - PAP)

Reference values

	mg/dL	µmol/L
Women	2.4 - 5.7	143 - 339
Men	3.4 - 7.0	202 - 416
24-h urine ⁷⁾ : 0.25 - 0.75 g resp. 1.49 - 4.46 mmol		

Tips

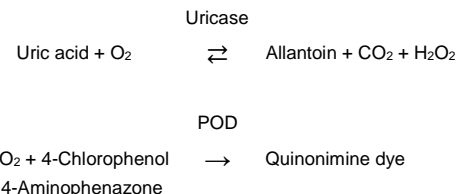
- The reagent solution, which needs to be shelved in the refrigerator, has to be warmed up to room temperature, before measurement.
- In case of haemolytic or lipaemic sera it is recommendable to use a sample blank: For zero adjustment use the cuvette with sample material instead of the blank value cuvette. Afterwards start reaction with cap.

Summary

Uric acid is the final product of the purine metabolism. It arises due to the decomposition of endogenous and exogenous (with food ingested) purines in the organism. The excretion takes place at approx. 80 % via the kidney. If the serum-uric acid levels are too high, the released uric acid crystallises out and deposits in the tissue.^{4,5)}

Nowadays only enzymatic methods, which are based on the oxidation of uric acid via uricase, are used for the determination. The withdrawal of the uric acid concentration can be measured spectral-photometrically (UV test). As a matter of routine the PAP methods, which contain the Trinder reaction (H₂O₂, which was generated during the uricase reaction, converts into a dye), have proved of value. This measurement principle forms also the basis of the Diaglobal colorimetric test.

Measurement principle⁴⁾



The concentration of the quinonimine dye is proportional to the concentration of uric acid in serum / plasma and is measured photometrically at 546 nm.

Performance parameters Specificity / interferences ⁶⁾

No interference due to bilirubin (< 20 mg/dL), lipaemia (triglycerides < 1000 mg/dL), and ascorbic acid in physiological concentrations (< 20 mg/l).
 Haemoglobin falsifies too high values, in case of not considering the sample blank value.
 Interferences due to pharmaceuticals: lowered values due to methyl dopa (> 3 mg/l) and gentisine acid (> 15 mg/l) in concentrations above the therapeutic field.

Inaccuracy

The reproducibility was checked using human and control samples.

In series [n = 20]	Average [mg/dL]	Standard deviation [mg/dL]	VK [%]
Sample 1 Sample 2	4.29 9.77	0.10 0.16	2.3 1.6
From day to day [n = 20]	Average [mg/dL]	Standard deviation [mg/dL]	VK [%]
Sample 1 Sample 2	4.31 9.71	0.12 0.19	2.7 1.9

Analytic sensitiveness

Lower detection limit: 0.4 mg/dL (24 µmol/L)

Comparison of methods

A comparison of the Diaglobal test HSR 342 (y) and a commercially available test (x) based on the Uricase-PAP method resulted in the following correlation according to the Passing/Bablok⁷⁾ process:

$$y = 1.036x - 0.09$$

$$r = 0.992$$

n = 40

Concentration range: 1.6 - 18 mg/dL

Information on disposal

Waste code number 180106:
 Vials with reagent are considered hazardous waste. Do not allow reagent to reach surface water or sewage system. Dispose of in accordance with official regulations. Non-contaminated and completely empty packaging can be recycled.
 Non-contaminated and completely empty packaging can be recycled.

Bibliography

1. Henry RJ et al. Clinical Chemistry, 2nd rev. ed. New York: Harper & Row, 1974:541
2. Fossati P, Precipe L, Berti G. Clin Chem 1980;26:227
3. <http://www.diaglobal.de/de/service/downloads/index.html>
4. Thomas L. Labor und Diagnose, 4. Aufl. Marburg: Die Medizinische Verlagsgesellschaft 1995: 247
5. Rick W. Klinische Chemie und Mikroskopie, 6. Aufl. Berlin Heidelberg: Springer Verlag 1972: 250
6. Sonntag O. Arzneimittelinterferenzen. Stuttgart, New York: Thieme Verlag, 1985:43
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