



BIOLABO
www.biolabo.fr
FABRICANT :
BIOLABO SAS,
Les Hautes Rives
02160, Maizy, France

AMMONIAC Méthode enzymatique

Réactif pour le dosage quantitatif de l'ammoniac dans le plasma humain.

REF 99261 :	R1 6 x 20 mL	Tampon-Coenzyme
	R2 1 x 1,5 mL	Enzymes
	R3 1 x 10 mL	Etalon 5000 µg/L

CODE CNQ: AX

SUPPORT TECHNIQUE ET COMMANDES

Tel : (33) 03 23 25 15 50



IVD USAGE IN VITRO

Fax : (33) 03 23 256 256

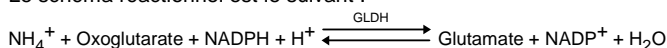
INTERET CLINIQUE (1)

Il existe plusieurs causes possibles, qu'elles soient innées ou acquises, à l'hyperammoniémie. Des dysfonctionnements innés des enzymes du cycle de l'urée sont la cause principale de l'hyperammoniémie chez l'enfant. Une hyperammoniémie peut également être significative d'une atteinte importante de la fonction hépatique ou rénal (hépatites fulgurantes, cirrhoses, syndrome de Reye).

PRINCIPE (4) (5)

Méthode enzymatique de dosage de l'ammoniac décrite par MONZAC et Al et modifiée par VAN ANKEN et Al.

Le schéma réactionnel est le suivant :



La diminution de l'absorbance due à l'oxydation du NADPH en NADP⁺ est proportionnelle à la quantité d'ammoniac présente dans le spécimen et est mesurée à 340 nm.

REACTIFS

flacon R1 TAMPON-COENZYME

Tampon TRIS pH 8,0 à 25°C	81 mmol/L
Oxoglutarate	3,3 mmol/L
NADPH	0,18 mmol/L
EDTA	≥ 4 mmol/L
Conservateur	

Avant reconstitution :

T, R23/24/25 : Toxique par inhalation, contact avec la peau et par ingestion
S22 - 28₃ : Ne pas respirer les poussières. Après contact avec la peau, se laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et du savon
S36 - S38 / Porter des gants appropriés. En cas de ventilation insuffisante, porter un appareil respiratoire approprié.

Après reconstitution : Néant

flacon R2 ENZYME

GLDH (Glutamate déshydrogénase) ≥ 9300 UI/L

flacon R3 ETALON NH₃ 5000 µg/L (294 µmol/L)

PRECAUTIONS

Les réactifs BIOLABO sont destinés à du personnel qualifié, pour un usage in vitro.

- Vérifier l'intégrité des réactifs avant leur utilisation
 - Utiliser des équipements de protection (blouse, gants, lunettes).
 - Ne pas pipeter avec la bouche.
 - En cas de contact avec la peau ou les yeux, rincer abondamment à l'eau et consulter un médecin.
 - Les réactifs contiennent de l'azide de sodium (concentration < 0,1%) qui peut réagir avec les métaux tel que le cuivre ou le plomb des canalisations. Rincer abondamment.
 - La fiche de données de sécurité peut être obtenue sur simple demande.
 - Elimination des déchets : respecter la législation en vigueur.
- Par mesure de sécurité, traiter tout spécimen comme potentiellement infectieux. Respecter la législation en vigueur.

PREPARATION DES REACTIFS

Flacons R2, R3 : Les réactifs sont prêts à l'emploi.

Flacon R1 : Ajouter rapidement 20 mL d'eau déminéralisée.

Agiter doucement jusqu'à complète dissolution (environ 2 minutes).

STABILITE ET CONSERVATION

Conserver à l'abri de la lumière, dans le flacon d'origine bien bouché et à 2-8°C.

- Etalon (flacon R3) : Transvaser la quantité nécessaire, bien reboucher et stocker à 2-8°C.
- Avant ouverture, les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette, s'ils sont utilisés et conservés dans les conditions préconisées.
- Après reconstitution, le réactif de travail (flacon R1) est stable 1 mois en l'absence de contamination.
- Après ouverture, le réactif R2 est stable 6 mois en l'absence de contamination.
- Ne pas utiliser le réactif s'il est trouble ou si le blanc réactif à 340 nm est < 0,600.
- Ne pas utiliser le réactif de travail après la date de péremption indiquée sur l'étiquette du coffret.

PRELEVEMENT ET PREPARATION DU SPECIMEN (2)

Plasma (EDTA ou héparine autre que l'héparinate d'ammonium).

Prélever le sang sans stase veineuse en tube sous vide. Veiller à ne pas laisser de vide résiduel.

Mettre le prélèvement dans la glace et centrifuger dans les 15 minutes en tube bouché. Séparer le plasma et effectuer le dosage aussi rapidement que possible sous peine d'obtenir des résultats surévalués.

INTERFERENCES (3) (5)

Les études réalisées sur sérums donnent les résultats suivants :

Interférant	Ammoniac dans le spécimen (µg/L)	Résultats
Acide ascorbique	2000	Pas d'interférence jusqu'à 250 mg/L
Bilirubine totale	1580	Interférence positive dès 10 µmol/L
Hémoglobine	1930	Interférence négative à partir de 37 µmol/L
Glucose	1213	Pas d'interférence jusqu'à 10 g/L
Lipémie	1760	Pas d'interférence jusqu'à 0.304 abs mesurée à 600 nm (lactescence)

Tout plasma hémolysé doit être rejeté.

Pour éviter la contamination par l'ammoniac de l'environnement, reboucher rapidement les flacons de réactifs et Etalon après utilisation. L'interférence des métaux lourds est limitée par la présence d'EDTA dans le réactif.

Young D.S. a publié une liste des substances interférant avec le dosage.

REACTIFS ET MATERIEL COMPLEMENTAIRES

1. Equipement de base du laboratoire d'analyses médicales.
2. Contrôles normaux et pathologiques.

CALIBRATION

- Etalon du coffret (flacon R3) dosé dans des conditions standardisées par méthode enzymatique et avec étalon aqueux traçable sur standard NERL
- Ou tout calibrant raccordé sur une méthode ou un matériau de référence

La fréquence de calibration dépend des performances de l'analyseur et des conditions de conservation du réactif.

Il est recommandé de calibrer à nouveau dans les cas suivants :

1. Changement du lot de réactif.
2. Après opérations de maintenance sur l'analyseur.
3. Les valeurs de contrôle sortent des limites de confiance, même après utilisation d'un nouveau flacon de contrôle.

CONTRÔLE DE QUALITE

CODE CNQ: AX

- Contrôle Normal Ethanol Ammoniac Bicarbonate REF 95013
- Contrôle Pathologique Ethanol Ammoniac Bicarbonate REF 95023
- Programme externe de contrôle de la qualité.

Il est recommandé de contrôler dans les cas suivants :

- Au moins un contrôle par série.
- Au moins un contrôle par 24 heures.
- Changement de flacon de réactif.
- Après opérations de maintenance sur l'analyseur.

Lorsqu'une valeur de contrôle se trouve en dehors des limites indiquées, appliquer les actions suivantes :

1. Répéter le test en utilisant le même contrôle.
2. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, préparer un contrôle fraîchement reconstitué et répéter le test.
3. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, utiliser un autre calibrant ou un calibrant fraîchement reconstitué et répéter le test.
4. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, calibrer à nouveau en utilisant un autre flacon de réactif et répéter le test.
5. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, contacter le service technique BIOLABO ou le revendeur local.

INTERVALLES DE REFERENCE (2)

NH ₃	µg/L	[µmol/L]
0-10 jours	1700-3410	[100-200]
10 jours à 2 ans	680-1360	[40-80]
≥ 2 ans	190-600	[11-35]

Il est recommandé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence pour la population concernée.

PERFORMANCES

Intra-série N = 20	Taux I	Taux II	Inter-série N = 20	Taux I	Taux II
Moyenne µg/L	862	5000	Moyenne µg/L	2014	4992
S.D. µg/L	32	39	S.D. µg/L	70,5	196
C.V. %	3,7	0,78	C.V. %	3,5	3,92

Limite de détection : environ 453 µg/L

Sensibilité pour 5000 µg/L d'ammoniac : 0,115 Abs. à 340 nm

Comparaison avec réactif du commerce (méthode enzymatique) :

Pas de données disponibles à ce jour

LIMITE DE LINEARITE

La réaction est linéaire jusqu'à 20 000 µg/L (1175 µmol/L).

Au-delà, diluer le spécimen (1 + 4) avec de l'eau fraîchement déminéralisée ne contenant pas d'ammoniac et refaire le dosage en tenant compte de la dilution dans le calcul du résultat. La limite de linéarité dépend du rapport de dilution spécimen/réactif.

MODE OPERATOIRE (TECHNIQUE MANUELLE)

Ramener les réactifs et spécimens à température ambiante.

Mesurer dans des tubes à essais bien identifiés :	Blanc	Etalon	Essai
Plasma			100 µL
Etalon R3		100 µL	
Eau déminéralisée	100 µL		
Réactif 1	1,5 mL	1,5 mL	1,5 mL
Mélanger. Laisser reposer 1 minute à température ambiante. Lire les absorbances A1 à 340 nm contre de l'eau.			
Réactif 2	10 µL	10 µL	10 µL
Mélanger. Laisser reposer 10 minutes à température ambiante. Lire les absorbances A2 à 340 nm contre de l'eau.			

Remarque : des procédures spécifiques sont disponibles pour les analyseurs automatiques. Contacter le service technique BIOLABO.

CALCUL

Le résultat est déterminé d'après la formule suivante :

$$\text{Ammoniac} = \frac{(A1 - A2)_{\text{Essai}} - (A1 - A2)_{\text{Blanc}}}{(A1 - A2)_{\text{Etalon}} - (A1 - A2)_{\text{Blanc}}} \times \text{Concentration de l'Etalon}$$

REFERENCES

- (1) TIETZ N.W. Text book of clinical chemistry, 3rd Ed. C.A. Burtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunders (1999) p. 1146-1147.
- (2) Clinical Guide to Laboratory Test, 4th Ed., N.W. TIETZ (2006) p. 98-99.
- (3) YOUNG D.S., Effect of Drugs on Clinical laboratory Tests, 4th Ed. (1995) p. 3-40 à 3-42
- (4) MONDZAC A, EHRlich GE, and SEEgmILLER JE. : An enzymatic determination of Ammonia in biological fluids. The journal of laboratory and Clinical medicine (J. Lab. Clin. Med.) Vol 66 1965 pp. 526-531.
- (5) VAN ANKEN H.C. and SCHIPHORST M.E. A kinetic determination of Ammonia in Plasma. Clinica Chimica Acta, 56 (1974) pp. 151-157