

# Waarde van urinair ammonium bij de diagnose van nierziekten

Amber Cousse

Supervisor: Apr. Klin. Biol. Glynis Frans

17/05/2022





Inleiding



Onderzoeksvragen



Conclusie

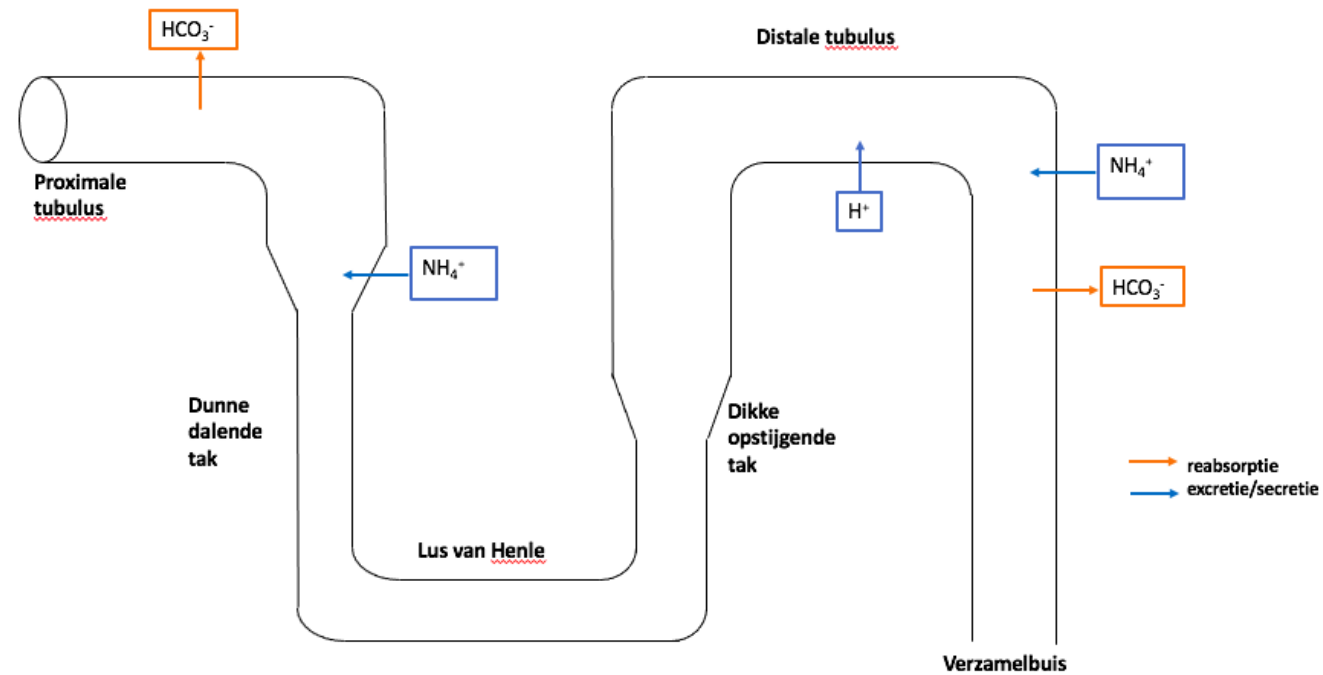


To do / actions



# Inleiding

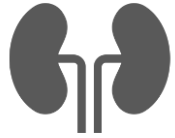
Rol van de nier in het behoud van de zuur-basebalans



*Figuur 1: Belangrijkste aspecten m.b.t. de controle van de zuur-basebalans t.h.v. het nefron*



# Inleiding



## Renale tubulaire acidose (RTA)

- Zeldzaam
- Verschillende types
  - Distale RTA (dRTA, type 1)
  - Proximale RTA (pRTA, type 2)
  - Type 4 (secundaire aldosterone deficiëntie)
- Kliniek
  - Osteomalacie
  - Spierzwakte
  - Nefro- en/of urolithiasis
  - Kinderen: groeiproblemen



# Inleiding



## RTA in het **laboratorium**

- Laboratoriumafwijkingen
  - Hyperchloremische metabole acidose
  - Normaal/licht gedaalde glomerulaire filtratiesnelheid (GFR)
  - Normale anion gap in het bloed
- Routinetesten
  - Concentraties  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{K}^+$ , aldosteron en renine in serum/plasma
  - Urinaire pH en concentratie urinair  $\text{NH}_4^+$
  - (concentraties urinair citraat en  $\text{Ca}^{2+}$ )
  - Bloedgasanalyse
- Dynamische testen
  - $\text{HCO}_3^-$ -ladingstest
  - $\text{NH}_4\text{Cl}$ -ladingstest



# Inleiding

Tabel 1: Laboratoriumparameters voor verschillende types RTA<sup>1,2</sup>

Laboratoriumparameter	Distale renale tubulaire acidose (dRTA) (type 1) klassieke type	Proximale renale tubulaire acidose (pRTA) (type 2)	Secundaire aldosterone deficiëntie (type 4)
Urinaire pH	> 5,5	< 5,5	< 5,5
Urine anion gap (UAG)	Positief	(Negatief)	Positief
Urine osmolal gap (UOG)	Verlaagd	(Verhoogd)	Verlaagd
Fractionele bicarbonaatexcretie	< 5-10 %	> 15%	5-15%
Urinaire calcium	Normaal-hoog	Normaal	Normaal
Urinaire citraat	Laag	Normaal	Normaal
Urinaire ammonium	Laag	Normaal/licht verhoogd	Laag
Serum kalium	Normaal/laag	Normaal/laag	Hoog

<sup>1</sup> Penney MD, Olesky DA. Renal Tubular Acidosis. Ann Clin Biochem. 1999;36:408–22.

<sup>2</sup> Thomas L. Renal electrolyte excretion. In: Clinical laboratory diagnostics. First Engl. Frankfurt, Germany: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 314–6.



# Inleiding



Waarom deze vraag?

- Correcte diagnose oorzaak bij (hyperchloremische) metabole acidose
  - → correcte behandeling
- Op vraag van de dienst kinder nefrologie UZL<sup>3</sup>

**ACKD**  
Advances in Chronic Kidney Disease

A Journal of the  National Kidney Foundation\*

Vol 25, No 4, July 2018

EDITORIAL

**It Is Really Time for Ammonium  
Measurement**





# Onderzoeksvragen

- 1) Heeft de rechtstreekse meting van urinair ammonium een toegevoegde waarde bij de diagnose van nierziekten en met name bij renale tubulaire acidose?
- 2) Zijn er specifieke aandachtspunten met betrekking tot de pre-analytische fase voor de bepaling van urinair ammonium?
- 3) Welke assays kunnen gebruikt worden voor de directe meting van urinair ammonium?



- 1) Heeft de rechtstreekse meting van urinair ammonium een toegevoegde waarde bij de diagnose van nierziekten en met name bij renale tubulaire acidose?

Urinair ammonium → evaluatie instandhouding zuur-basebalans t.h.v. de nier

- Verlaagde ammoniumexcretie = vroegtijdige merker metabole acidose
- Metabole acidose = risicofactor achteruitgang nierfunctie en mortaliteit bij chronische nierinsufficiëntie (CNI)



Inschatting urinaire ammoniumconcentratie o.b.v.:

- **Urine anion gap (UAG)**

$$\text{Urine anion gap (UAG) (in } \frac{\text{mEq}}{\text{L}} \text{ of } \frac{\text{mmol}}{\text{L}}) = ([\text{Na}^+]_u + [\text{K}^+]_u) - [\text{Cl}^-]_u$$

Interpretatie i.g.v. hyperchloremische metabole acidose

- Negatief = indicatief voor niet-renale oorzaken (vb. chronische diarree)
  - Positief = indicatief voor dRTA
- Urine osmolal gap (UOG)

- 1) Heeft de rechtstreekse meting van urinair ammonium een toegevoegde waarde bij de diagnose van nierziekten en met name bij renale tubulaire acidose?



Inschatting urinaire ammoniumconcentratie o.b.v.:

- Urine anion gap (UAG)
- **Urine osmolal gap (UOG)**

*Gemeten osmolaliteit - berekende osmolaliteit*

$$\text{Berekende urinaire osmolaliteit} \left( \frac{\text{mOsmol}}{\text{kg}} \right) = (2 \times [\text{Na}^+]_u + [\text{K}^+]_u) + [\text{ureum}]_u + [\text{glucose}]_u$$

Interpretatie i.g.v. hyperchloremische metabole acidose

- Verlaagd (< 150 mOsmol/kg) = indicatief voor dRTA
- Verhoogd (> 400 mOsmol/kg) = indicatief voor niet-renale oorzaken

1) Heeft de rechtstreekse meting van urinair ammonium een toegevoegde waarde bij de diagnose van nierziekten en met name bij renale tubulaire acidose?

→ Nut van directe bepaling?

- Beperkingen UAG en UOG
  - Kwalitatieve benaderingen
  - UAG is dieet-afhankelijk
  - Positieve UAG ook mogelijk i.g.v. respiratoire alkalose
  - UAG kan bij bepaalde indicaties niet gebruikt worden
  - Verlaagde UOG wanneer  $\text{Na}^+$  /  $\text{K}^+$  niet volledig van hun anionen dissociëren
- Op basis van AASK Disease and Hypertension and the NephroTest Cohort-studie<sup>3,4</sup>
  - Inschatten risico op verdere progressie van CKD en mortaliteit

**!** **MAAR:**  
Steeds samenleggen met de kliniek, urinaire pH en serumkaliumconcentratie

AASK = African-American Study of Kidney

<sup>3</sup> Raphael KL, Yee J. It Is Really Time for Ammonium Measurement. *Adv Chronic Kidney Dis.* 2018;25(4):297–300.

<sup>4</sup> Raphael KL, Carroll DJ, Murray J, Greene T, Beddhu S. Urine ammonium predicts clinical outcomes in hypertensive kidney disease. *J Am Soc Nephrol.* 2017;28(8):2483–90.

## 2) Zijn er specifieke aandachtspunten met betrekking tot de pre-analytische fase voor de bepaling van urinair ammonium?

### Bepaling ammoniak in plasma:

- Zo kort mogelijke tijd tussen afname en analyse (< 60 min)
  - Transport naar het labo op ijs
- reden: *in vitro* degradatie glutamine

#### 5 Specimen collection and preparation

For specimen collection and preparation only use suitable tubes or collection containers.

Only the specimens listed below were tested and found acceptable.  
K<sub>2</sub>- and K<sub>3</sub>-EDTA plasma

Pay particular attention that the tubes are adequately filled according to the instruction of the tube manufacturer.

Do not use plasma prepared with other anticoagulants.

Do not use serum since ammonia can be generated during clotting.

The sample types listed were tested with a selection of sample collection tubes that were commercially available at the time of testing, i.e. not all available tubes of all manufacturers were tested. Sample collection systems from various manufacturers may contain differing materials which could affect the test results in some cases. When processing samples in primary tubes (sample collection systems), follow the instructions of the tube manufacturer.

Smoking should be avoided prior to sampling. Tubes should be filled completely and kept tightly stoppered at all times. Place immediately on ice and centrifuge, preferably at 2-8 °C. Perform analysis within 60 minutes of venipuncture or freeze separated plasma immediately.

Ammonia concentrations can increase *in vitro* due to breakdown of nitrogen-containing plasma components. One known source of ammonia formation is an increased  $\gamma$ -glutamyltransferase activity leading to decomposition of glutamine.<sup>3</sup>

Avoid contamination of samples by ammonia from smoking or traffic in laboratory or patient's room, from glassware or water.

Centrifuge samples containing precipitates before performing the assay.

See the limitations and interferences section for details about possible sample interferences.

Stability in plasma:	30 min at 15-25 °C
	2 hours at 2-8 °C
	3 days at -20 °C ± 5 °C
	at least 4 weeks at (-60)-(-90) °C

2) Zijn er specifieke aandachtspunten met betrekking tot de pre-analytische fase voor de bepaling van urinair ammonium?



Belangrijkste bevindingen uit de literatuur:

- Verdunning op basis van meetbereik te gebruiken assay gevalideerd voor ammoniak in plasma
- Centrifugeren urine
- Onmiddellijke analyse / batch-testen
  - Stabiliteit: tot 24 uur op KT / tot 7 dagen bij 4°C<sup>6</sup>  
→ *verhoogde waarden als gevolg van degradatie ureum*
- Random urinestaal / 24-uurs urinestaal



### 3) Welke assays kunnen gebruikt worden voor de directe meting van urinair ammonium?

Studie Cardo et al. (2019)<sup>7</sup>

- Cobas c501
  - Principe: enzymatisch & fotometrie



- Validatie m.b.v. volgende controles:
  - Urinestalen gespiked met gekende concentratie ammoniumjodide
  - Lyphocheck Quantitative Urine Control level 2
  - Pool van random geselecteerde urinestalen

GLDH = glutamaatdehydrogenase

<sup>7</sup>Cardo L, Gil-Peña H, García-García M, Fernández JC, Santos F, Álvarez FV. Implementation of an automated method for direct quantification of urinary ammonium. Clin Chem Lab Med. 2019;57(8):203–5.

### 3) Welke assays kunnen gebruikt worden voor de directe meting van urinair ammonium?

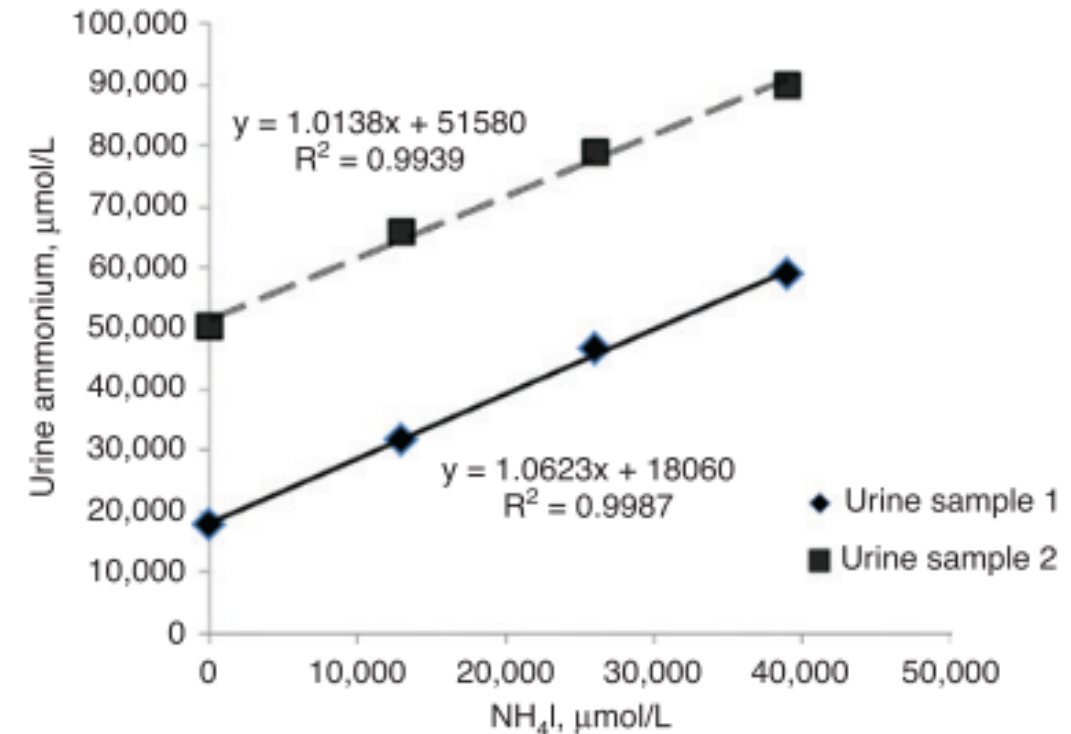
Studie Cardo et al. (2019)<sup>7</sup>:

#### CONCLUSIE

✓ Lineariteit

(recovery van 98-120%:  
gemiddelde ( $\bar{x}$ )  $\pm$  SD = 107.7%  $\pm$  7.1%)

- Herhaalbaarheid
- Reproduceerbaarheid



**Figure 1:** Linearity of ammonium concentration in two urine samples spiked with ammonium iodide.

### 3) Welke assays kunnen gebruikt worden voor de directe meting van urinair ammonium?

Studie Cardo et al. (2019)<sup>7</sup>:

#### **CONCLUSIE**

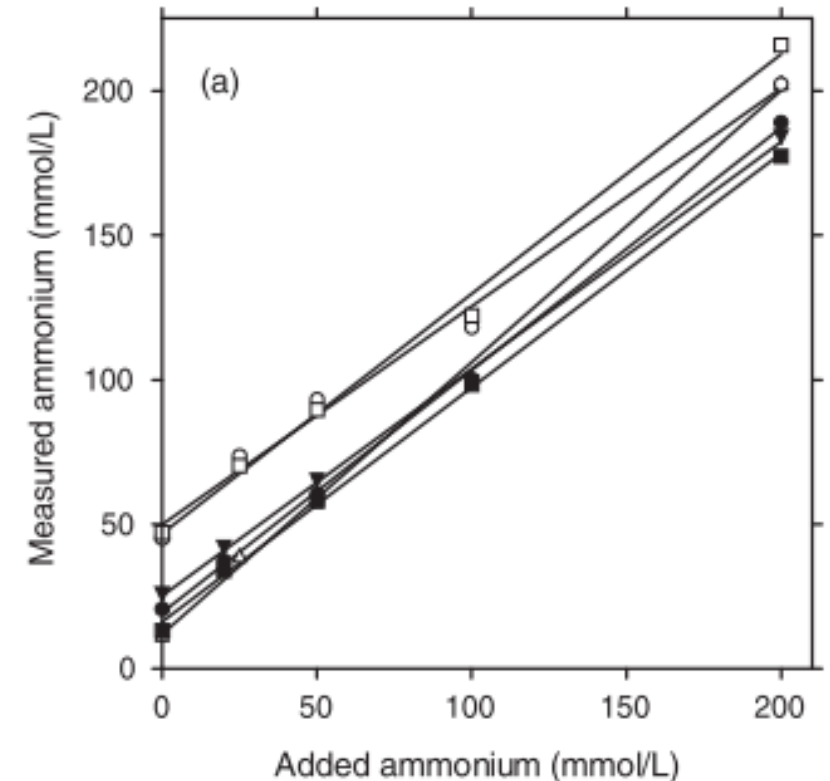
- ✓ Lineariteit
- ✓ Herhaalbaarheid (CVs = 4.7% en 4.2%)
- ✓ Reproduceerbaarheid (CVs = 5.6% en 4.2%)



### 3) Welke assays kunnen gebruikt worden voor de directe meting van urinair ammonium?

Studie Ha et al. (2012)<sup>6</sup>

- Roche Modular & Abbott Architect ci 8200
  - Elk staal in duplo geanalyseerd
- ✓ **CONCLUSIE:** beide toestellen goede lineariteit recovery:
  - Roche Modular ( $\bar{x} \pm SD = 93.9\% \pm 4.1\%$ )
  - Architect ci 8200 ( $\bar{x} \pm SD = 92.0\% \pm 11.7\%$ )



**Figure 1** (a) Urine ammonium measurements on six urine samples spiked with ammonium chloride. *Closed symbols:* measurements on the Roche Modular; *open symbols:* measurements on the Abbott Architect. (b) Comparison of urine ammonium estimated by anion gap with measured urine ammonium. (c) Comparison of urine ammonium estimated by osmolar gap with measured urine ammonium

### 3) Welke assays kunnen gebruikt worden voor de directe meting van urinair ammonium?

Bijsluiters andere chemie-analyzers

- Beckman Coulter AU Chemistry Analyzers (*Fisher Diagnostics*)
- Atellica® CH Analyzer (*Siemens Healthineers*)
- Alinity c (*Abbott Laboratories*)

→ Zelfde meetprincipes: doortrekken van conclusies uit de studies

⇒ Analyse urinair ammonium lijkt haalbaar in routine!  
(mits analytische en klinische validatie)



# Conclusie

1) **Waarde** directe bepaling urinair ammonium?

⇒ Zeker waardevol!

- Tegemoetkomen aan de beperkingen van UAG en UOG in diagnose RTA
- *(Inschatten risico op verdere progressie van CNI en mortaliteit)*

2) **Pre-analytiek?**

⇒ Lijkt eenvoudiger dan gedacht!

3) **Analyse** in routinepraktijk?

⇒ Lijkt haalbaar met analyzers die op dit moment voor de bepaling van ammoniak in plasma worden gebruikt, mits analytisch en klinisch validatieproject



## To do / actions

Komende maanden: opstarten analytisch validatieproject op de Roche Cobas c702 in LAG



Klinische validatie in samenwerking met de dienst (kinder)nefrologie?  
→ voorstel: directe meting urinair ammonium in parallel analyseren met berekeningen UAG en UOG

Bedankt voor jullie aandacht!

