

CAT

CRITICALLY APPRAISED TOPIC

Titel: “Waarde van urinair ammonium bij de diagnose van nierziekten.”

Author: Amber Coussee

Supervisor: Apr. Klin. Biol. Glynis Frans

Datum: 17/05/2022

CLINICAL BOTTOMLINE

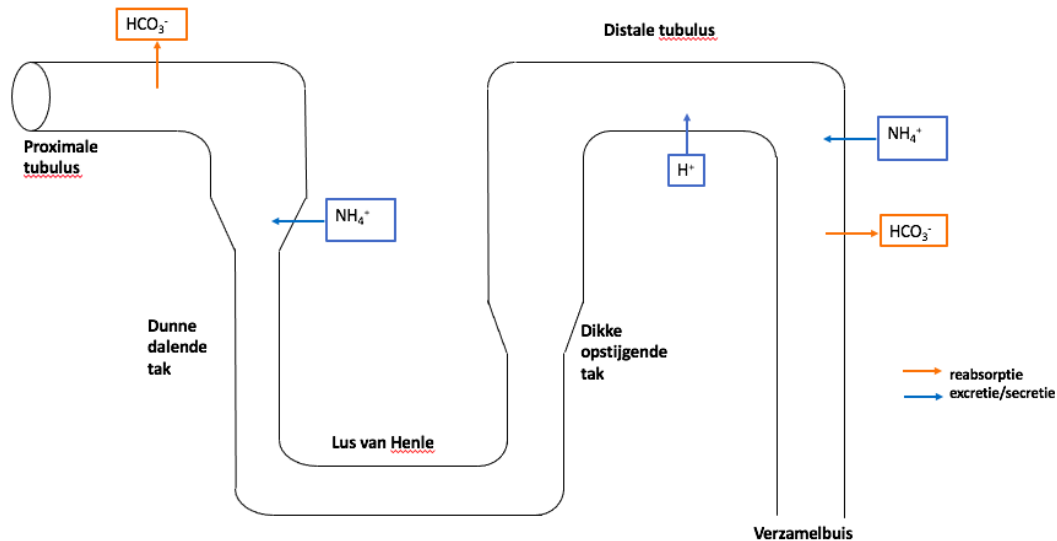
Introductie: De nier speelt een belangrijke rol in het behoud van de zuur-basebalans. In geval van renale tubulaire acidose (RTA), een zeldzame metabole acidose, is er ter hoogte van de niertubuli een probleem met de secretie van waterstofionen (H^+) en/of reabsorptie van bicarbonaationen (HCO_3^-). De diagnose van RTA wordt voornamelijk gesteld op basis van afwijkingen in verschillende laboratoriumparameters. In het laboratorium zijn hiervoor zowel routinetesten als dynamische testen beschikbaar. Meestal wordt er getracht een inschatting te maken van de urinaire ammoniumconcentratie. Tot op heden wordt dit voornamelijk gedaan door de urine anion gap (UAG) of urine osmolal gap (UOG) te berekenen, maar deze hebben enkele beperkingen. Vandaar een pleidooi voor de directe bepaling van urinair ammonium in de diagnose van RTA.

Methode: Onderzoek naar literatuur om de relevantie van de directe meting van urinaire ammoniumconcentratie te staven en eventuele implementatie in de praktijk in Laboratoriumgeneeskunde UZ Leuven.

Conclusie: Op basis van de beperkte literatuur die gevonden werd, lijkt de directe meting van urinair ammonium toch een zeker nut te hebben in de diagnose van RTA. Voortgaande op enkele studies kan er verondersteld worden dat deze bepaling kan gebeuren met assays die op dit moment in de routine worden gebruikt om ammoniak in plasma te analyseren. Verdere studies kunnen opgezet worden om dit te onderzoeken in de diagnostische praktijk.

CLINICAL/DIAGNOSTIC SCENARIO

De nier speelt een belangrijke rol in het behoud van de zuur-basebalans. Dit via onder andere: proximale tubulaire reabsorptie van bicarbonaationen (HCO_3^-); proximale tubulaire aanmaak en netto excretie van ammoniumionen (NH_4^+) en distale secretie van waterstofionen (H^+) (1). In het geval van renale tubulaire acidose (RTA) is er ter hoogte van de niertubuli een probleem met de secretie van H^+ en/of reabsorptie van HCO_3^- (1,2) (Figuur 1).



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

RTA is een zeldzaam voorkomende aandoening (3), waarbij er verschillende types beschreven zijn afhankelijk van de plaats in het nefron waar het probleem zich situeert. Distale RTA (type 1) (dRTA) wordt gekenmerkt door een defect in de H^+ -secretie. dRTA kan worden onderverdeeld in verschillende subtypes: secretoire dRTA met onvoldoende secretie van H^+ naar de urine, back-leak dRTA waarbij H^+ terug diffundeert over de membraan en spanningsafhankelijke dRTA waarbij de nier niet in staat is om een negatieve intraluminaal potentiaal te behouden met onder andere een verminderde H^+ -secretie tot gevolg. Er is ook een onvolledig type dRTA waarbij er geen metabole acidose is (1,2). dRTA is het vaakst gediagnosticeerde subtype (3). Bij proximale RTA (type 2) (pRTA) is er onvoldoende HCO_3^- -reabsorptie ter hoogte van de proximale tubulus en is vaak geassocieerd met het Fanconisyndroom. Een laatste type (type 4) wordt veroorzaakt door een secundaire aldosterone deficiëntie met onvoldoende secretie van H^+ en kaliumionen (K^+) in de verzamelbuisjes tot gevolg. De term gemengde RTA (type 3) wordt niet of slechts weinig toegepast (1,2). Zowel genetische (o.a. mutaties in ionentransporters) als verworven oorzaken (vb. auto-immuunaandoeningen, medicatie) kunnen aan de basis liggen voor het ontstaan van elk type RTA (2,4).

Er zijn weinig gegevens terug te vinden over de epidemiologie van RTA, net omdat dit een zeldzame aandoening is (5,6). Één studie, uitgevoerd door Bianic et al. (2017), heeft onderzoek gedaan naar het aantal diagnoses van primaire en secundaire vormen van dRTA in de periode van 1 januari 1987 tot en met 27 november 2017 in Engeland. Daarvoor werden de Clinical Practice Research Datalink (CPRD) GOLD UK database en Hospital Episode Statistics (HES) data geraadpleegd, waarbij in 2017 nog 113 patiënten geregistreerd stonden met de diagnose van dRTA. De gemiddelde leeftijd van patiënten gediagnosticeerd met dRTA in 2017 was 53 jaar (erfelijke dRTA: 26 jaar en verworven dRTA: 61 jaar), waarbij 58% vrouwelijke en 42% mannelijke patiënten. Er werd ook een algoritme ontwikkeld om niet of verkeerd gediagnosticeerde dRTA op te sporen. Men concludeerde dat de eigenlijke prevalentie van dRTA tot drie keer hoger ligt dan het aantal effectief gerapporteerde diagnoses. Op basis van dit algoritme kwam men tot een geschatte prevalentie van 0,46 (effectief gediagnosticeerd) tot 1,60 (effectief gediagnosticeerd en verdacht voor diagnose) per 10 000 personen. Deze data werden eveneens geëxtrapoleerd naar de volledige Europese populatie, waarbij enkel leeftijd en geslacht werden beschouwd (7).

Een andere studie rapporteerde voor primaire dRTA een prevalentie van minder dan 1 op 100 000 in de Verenigde Staten bij een populatie verzekerd via de werkgever. De prevalentie van secundaire dRTA wordt geschat tien keer hoger te zijn dan de primaire vorm. Auto-immune aandoeningen zijn de vaakst voorkomende oorzaak voor secundaire dRTA, waarbij het syndroom van Sjögren het vaakst gerapporteerd wordt. (8,9).

Patiënten die aan RTA lijden, presenteren zich meestal met volgende afwijkingen in laboratoriumparameters: een hyperchloremische metabole acidose, een normale of licht gedaalde glomerulaire filtratie snelheid (GFR) en een normale anion gap in het bloed (1,2,4). De verschillende (sub)types van RTA kunnen van elkaar onderscheiden worden door andere afwijkingen in de laboratoriumparameters (1). Karakteristieken van de drie hoofdtypes RTA (type 1, 2 en 4) in deze parameters staan beschreven in Tabel 1. In deze CAT zal dieper worden ingegaan op de verschillende laboratoriumparameters en de bepaling ervan.

Tabel 1: Laboratoriumparameters voor verschillende types RTA (1,10)

Laboratoriumparameter	Distale renale tubulaire acidose (dRTA) (type 1) <i>klassieke type</i>	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

* Geen richtlijnen beschikbaar met betrekking tot UAG/UOG in pRTA, hoewel klinisch en biochemisch wordt aangenomen dat de voorgestelde waarden tussen haakjes indicatief zijn voor pRTA (11).

De diagnose van RTA wordt voornamelijk gesteld op basis van afwijkingen in verschillende laboratoriumparameters, daar er meestal initieel geen uitgesproken kliniek is (1). Een eerste hint om te denken aan RTA is een laag serum/bicarbonaat in combinatie met een normale serum/plasma anion gap. Op zich is het diagnosticeren van een acidose/alkalose in het geheel niet eenvoudig, omdat er steeds compensatiemechanismen optreden om de acidose/alkalose te herstellen (4).

In het laboratorium zijn er routinetesten en dynamische testen beschikbaar voor de diagnose van RTA. Vaak toegepaste routinetesten zijn onder andere het bepalen van de concentratie van chloorionen (Cl^-), K^+ , aldosteron en renine in serum/plasma, de urinaire zuurtegraad (pH) en de netto urinaire NH_4^+ -excretie. De netto urinaire NH_4^+ -excretie wordt meestal niet rechtstreeks gemeten, maar ingeschat op basis van de urine anion gap (UAG) en/of de urine osmolal gap (UOG) (1). Er wordt ook steeds aanbevolen om een bloedgasanalyse op een veneus of arterieel staal uit te voeren om de diagnose van een acidose/alkalose volledig sluitend te maken (4). De vaakst gebruikte dynamische testen zijn de HCO_3^- en ammoniumchloride (NH_4Cl) ladingstest (1). In UZ Leuven wordt de diagnose op heden gesteld op basis van de klassieke biochemische parameters in plasma, urinaire parameters (pH en UAG) en de kliniek van de patiënt.

Een correcte diagnose van de oorzaak van een (hyperchloremische) metabole acidose met een normale anion gap is cruciaal zodat de patiënt een correcte behandeling kan krijgen, vooral indien opgenomen op intensieve zorgen. Behandeling is voornamelijk supportief met herstel van de elektrolytenstoornissen en de zuur-basebalans (1,2,12). Een correct ingestelde behandeling van RTA is ook bedoeld om complicaties op lange termijn te voorkomen; zoals osteomalacie, spierzwakte, nefro- en/of urolithiasis en groeiproblemen bij kinderen (4,9).

De uitwerking van dit onderwerp is tot stand gekomen na de vraag van de dienst kinder nefrologie in UZ Leuven aan Laboratorium geneeskunde om de concentratie urinair ammonium rechtstreeks te gaan bepalen. Tot op heden wordt de concentratie van urinair ammonium ingeschat op basis van de UAG of UOG, maar deze hebben enkele beperkingen (1,4). Vandaar een pleidooi voor de directe bepaling van urinair ammonium in de diagnose van RTA.

QUESTION(S)

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?

SEARCH TERMS

1. *MeSH Database (PubMed): "Ammonium Compounds/urine"[Mesh], "Acidosis, Renal Tubular"[Mesh], "Ammonium Compounds/analysis"[Mesh], "Pre-analytical[MeSH Terms] OR Pre-analytical[tiab]", "Ammonia"[MeSH Terms]*
2. *PubMed (Medline, from 1966): "Ammonia-in-urine"*
3. *UpToDate Online*
4. *Orphanet Online*
5. *International Organizations: Mayo Clinic Laboratories, Roche Diagnostics, Fischer Diagnostics, Siemens Healthineers, Abbott Laboratories*

ABBREVIATIONS

AASK	African-American Study of Kidney
ACKD	Advances in Chronic Kidney Disease
ANI	acute nierinsufficiëntie
CAT	critically appraised topic
Cl ⁻	chloorion
CLR	Clinical Laboratory Reagent
CNI	chronische nierinsufficiëntie
CPRD	Clinical Practice Research Datalink
dRTA	distale renale tubulaire acidose
GFR	glomerulaire filtratiesnelheid
GLDH	glutamaatdehydrogenase
H ⁺	waterstofion
H ₂ O	water

HCO ₃ ⁻	bicarbonaation
HES	Hospital Episode Statistics
K ⁺	kaliumion
Na ⁺	natriumion
NH ₄ ⁺	ammoniumion
NH ₄ Cl	ammoniumchloride
pH	zuurtegraad
pRTA	proximale renale tubulaire acidose
RTA	renale tubulaire acidose
UAG	Urine Anion Gap
UOG	Urine Osmolal Gap

APPRAISAL

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

De bepaling van urinair ammonium is belangrijk om te evalueren of de nier de zuur-basebalans in stand kan houden (13). Verschillende studies hebben aangetoond dat een metabole acidose bij chronische nierinsufficiëntie (CNI) een risicofactor is voor verdere achteruitgang van de nierfunctie en mortaliteit (14). Initieel zal het lichaam proberen de serumbicarbonaatconcentratie op peil te houden door minder ammonium te excreteren in de urine. Zo kan een verlaagde ammoniumexcretie een vroegtijdige marker zijn voor een metabole acidose. De urinaire ammoniumconcentratie zal namelijk sneller wijzigen dan de serumbicarbonaatspiegel in geval van een metabole acidose. Op die manier kan de metabole acidose sneller opgepikt worden en bijgevolg kan de therapie sneller worden opgestart (14). Dit biedt tevens de mogelijkheid tot het diagnosticeren van een subklinische metabole acidose (15).

In de meeste centra gebeurt de bepaling van de urinaire ammoniumconcentratie op basis van de urine anion gap (UAG). De UAG is een berekende parameter, berekend met behulp van volgende formule (1,12):

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

Hierbij gebeurt er louter een inschatting van de urinaire ammoniumconcentratie. Voor gezonde volwassenen, die een normaal Westers dieet volgen, bedraagt de UAG tussen de 20 en 90 mmol/L (12). In principe zou je verwachten dat de UAG gelijk is aan nul, daar het lichaam chemische elektroneutraliteit wil nastreven. Dit is echter niet het geval omdat urinaire natriumion (Na⁺), K⁺ en Cl⁻ -concentraties afhankelijk zijn van de dagelijkse hoeveelheid ingenomen via de voeding (1,16). Verschillende studies toonden een inverse relatie aan tussen de UAG en de urinaire ammoniumconcentratie (1,12,16). Een negatieve UAG is indicatief voor de excretie van één of meer kationen verschillend van Na⁺ of K⁺, zoals bijvoorbeeld NH₄⁺, wat vooral gezien wordt bij niet-renale oorzaken (vb. door chronische diarree) (10,12,16). Een positieve UAG kan indicatief zijn voor dRTA, aangezien dit type van metabole acidose gepaard gaat met een verminderde ammoniumgenese en -excretie (12,16). De bepaling van de UAG bij een hyperchloremische acidose met een normale anion gap wordt vandaar vooral gebruikt om onderscheid te kunnen maken tussen renale en niet-renale oorzaken. Over het gebruik van de UAG in de diagnose van pRTA werden geen concrete richtlijnen teruggevonden, hoewel er klinisch en biochemisch aangenomen wordt dat een negatieve UAG geassocieerd is met pRTA (11).

Er zijn echter verschillende beperkingen verbonden aan het gebruik van de UAG om de urinaire ammoniumconcentratie in te schatten. Vooreerst is de UAG sterk afhankelijk van het dieet van de patiënt, wat kan leiden tot een verkeerde interpretatie (16,17). Bijkomend kan een positieve UAG en dus verlaagde ammoniumexcretie zowel bij een respiratoire alkalose als bij een metabole acidose voorkomen, waardoor het steeds belangrijk is om eerst een veneuze/arteriële bloedgasanalyse uit te voeren om duidelijk te stellen over welk type verstoring van de zuur-basebalans het gaat (4). Verdere beperkingen zijn onder andere dat het niet kan worden gebruikt bij patiënten met een acute nierinsufficiëntie (ANI) of CNI, in geval van een high anion gap metabole acidose, indien de urinaire pH hoger is dan 6,5 en ook bij neonaten wordt het gebruik afgeraden omdat ze meer niet-gemeten anionen excreteren dan volwassenen (12).

Een andere berekende parameter om tegemoet te komen aan de beperkingen van de UAG, is de urine osmolal gap (UOG) (12,17). De UOG wordt berekend door het verschil te maken tussen de gemeten urinaire osmolaliteit en de berekende urinaire osmolaliteit. Osmolaliteit kan gemeten worden met behulp van een osmometer, waarbij natrium-, kalium- en ammoniumzouten, ureum en glucose samen gemeten worden. De berekende osmolaliteit houdt geen rekening met de concentratie aan ammoniumzouten en wordt berekend aan de hand van volgende formule (1,12):

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

Ammoniumzouten leveren de grootste bijdrage aan de urinaire osmolaliteit, waardoor de UOG een goede parameter kan zijn voor het inschatten van de urinaire ammoniumconcentratie. Een verlaagde UOG (< 150 mOsmol/kg) in geval van een hyperchloremische metabole acidose met een normale anion gap is indicatief voor een verstoorde ammoniumexcretie, zoals het geval is bij dRTA. Een verhoogde UOG (> 400 mOsmol/kg) in geval van hyperchloremische metabole acidose met normale anion gap kan indicatief zijn voor een chronische diarree of andere metabole acidosen die niet toe te schrijven zijn aan renale defecten (12). Ook voor het gebruik van de UOG in de diagnose van pRTA zijn er geen concrete richtlijnen teruggevonden, hoewel er klinisch en biochemisch aangenomen wordt dat een verhoogde UOG geassocieerd is met pRTA (11). Net zoals bij de UAG gaat het om een kwalitatieve benadering en zijn er enkele beperkingen. De UOG kan namelijk ook verhoogd zijn in geval van bacteriële urineweginfecties en wanneer osmotisch actieve bestanddelen, niet meegenomen in de formule zoals mannitol en alcoholen, ook renaal worden geëxcreteerd zonder dat het urinaire ammonium verhoogd is. Een verlaagde UOG kan ook voorkomen wanneer Na^+ en K^+ niet volledig van hun anionen dissociëren, waardoor de urinaire ammoniumconcentratie ook te laag zal worden ingeschat (12).

Directe assays voor de bepaling van urinair ammonium worden tot op heden weinig in de routine gebruikt. Dit is te wijten aan het feit dat de firma's de assays vaak niet op urine gevalideerd hebben, omwille van de in de literatuur vermelde moeilijkheden gepaard gaande met de staal(voor)behandeling en omdat historisch gebruikte assays vaak arbeidsintensief zijn. Er zijn ook weinig concrete richtlijnen omtrent het gebruik ervan in de diagnostiek. Vandaar wordt er gebruik gemaakt van semi-kwantitatieve inschattingen op basis van berekeningen (13,15,17,18). In vraag 2 van deze CAT wordt dieper ingegaan op de staal(voor)behandeling voor de bepaling van urinair ammonium en in vraag 3 op de verschillende mogelijkheden om urinair ammonium in de routine te analyseren.

Een pleidooi voor het gebruik van directe assays voor de bepaling van urinair ammonium in de diagnose van nierziekten wordt gegeven in de paper van Raphael en Yee gepubliceerd in de Advances in Chronic Kidney Disease (ACKD) (2018) (4). Deze paper baseert zich onder andere op de African-American Study of Kidney (AASK) Disease and Hypertension and the NephroTest Cohort-studie, waarbij geconcludeerd werd dat de directe bepaling van urinair ammonium een meerwaarde kan bieden om het risico op de verdere progressie van CNI en mortaliteit in te schatten (4,14). Hierdoor zullen ook de beslissingen inzake de therapie versneld en geoptimaliseerd worden. De UAG zou geen goede predictor zijn, tenzij urinair fosfaat en sulfaat ook in rekening worden gebracht. Dit zorgt echter voor een verhoogd risico op fouten, omdat er dan rekening moet worden gehouden met vijf in plaats van drie parameters. Verder werd in deze studie ook aangetoond dat de UOG een betere correlatie vertoont met de urinaire ammoniumconcentratie dan de UAG. Over het algemeen zal een directe meting ook minder onderhevig zijn aan fouten dan de UAG en UOG omdat deze voortgaan op verschillende veronderstellingen (4).

De bepaling van de urinaire ammoniumconcentratie moet steeds worden samengelegd met de (initieel beperkte) kliniek van de patiënt, zijn urinaire pH en serumkaliumconcentratie. Enkel op die manier kan er geëvalueerd worden of het gaat om RTA en welk type.

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

Voor de bepaling van ammoniak in plasma is het belangrijkste aandachtspunt in de pre-analytische fase een zo kort mogelijke tijd tussen afname en analyse. De analyse dient binnen de 60 minuten te worden uitgevoerd. Daarnaast wordt aangeraden om na afname het staal onmiddellijk op ijs naar het labo te transporteren en bij aankomst onmiddellijk te centrifugeren. Deze maatregelen moeten worden toegepast omdat er vals verhoogde waarden van ammoniak kunnen worden waargenomen door *in vitro* degradatie van glutamine (19,20).

Ammoniumconcentraties gemeten in urine zijn tot 1000 keer hoger dan deze in plasma. Hierdoor zal de urine moeten verdund worden wanneer urinair ammonium wordt geanalyseerd met een assay gevalideerd voor plasma. De mate van verdunning zal bepaald worden op basis van het meetbereik van de te gebruiken assay (13,15,18,21,22).

In wat volgt zullen enkele studies worden besproken waarbij urinair ammonium werd geanalyseerd met een analyse gevalideerd voor de bepaling van ammoniak in plasma. Voor elk van deze studies wordt vooral ingegaan op hoe zij de pre-analytische fase hebben aangepakt.

Een studie van Cardo et al. (2019) heeft de concentratie urinair ammonium bepaald op de Cobas c501. Voor de staal(voor)behandeling hebben ze zich gebaseerd op voorgaande studies waarbij de urinaire ammoniumconcentratie werd bepaald, vaak met historische assays. In deze studie heeft men de vergelijking gemaakt tussen de urinaire ammoniumconcentratie bepaald op stalen die na afname onmiddellijk werden afgesloten met paraffine en stalen die na afname niet werden afgesloten met paraffine. Alle stalen werden op ijs naar het laboratorium gebracht. Bij aankomst in het labo werden beide types stalen gecentrifugeerd op 390 g gedurende 5 minuten en werd het supernatant onmiddellijk afgescheiden. Er werd 1/100 verdund met gedestilleerd water. De beide types stalen vertoonden vergelijkbare resultaten ($p = 0.235$). Hieruit concludeerde men dat het afsluiten met paraffine in principe niet nodig is (15).

De studie van Ha et al. (2012) bestudeerde onder andere de bewaaromstandigheden van urinair ammonium. De stalen werden steeds 1/200 verdund in een fysiologische zoutoplossing en werden parallel geanalyseerd op de Roche Modular en Abbott Architect ci 8200. De urinaire ammoniumconcentratie bleef stabiel gedurende 24 uur indien bewaard op kamertemperatuur. Urinaire ammoniumconcentraties in stalen bewaard bij 4°C blijven stabiel gedurende 1 week. Verhoogde ammoniumconcentraties in de urine werden waargenomen indien er urease-producerende bacteriën aanwezig waren in het staal (18). Een oudere studie van Kazuyuki et al. (1989) voerde bepalingen van urinaire ammoniumconcentraties uit op de DuPont aca Model III automatic clinical analyzer. De stalen werden hiervoor 1/50 verdund en werden bij verschillende temperaturen bewaard: kamertemperatuur, 4°C (koelkast) en -20°C (diepvries). Stalen bewaard op kamertemperatuur vertoonden een stabiele ammoniumconcentratie tot en met de vijfde dag. Voor de stalen bewaard bij 4°C en -20°C konden stabiele waarden worden waargenomen tot en met de 28^{ste} dag. Vermoedelijk worden verhoogde ammoniumconcentraties na enige periode waargenomen als gevolg van de degradatie van ureum (13).

In de *Clinical Laboratory Diagnostics* door Lothar Thomas (1998) wordt beschreven dat de analyse van urinair ammonium mogelijk is op een random urinestaal, waarbij er minstens 50 mL geürineerd moet worden en er een aliquot van minstens 10 mL moet kunnen worden afgenomen. Er wordt niets beschreven over de bewaaromstandigheden en -termijnen (10).

In de *Mayo Clinic Laboratories* wordt urinair ammonium bepaald op de Roche Cobas c501 met de Roche Diagnostics NH3L kit. Dit kan zowel op random urinestalen als op 24-uurs urinestalen uitgevoerd worden (21,22). Random urinestalen worden steeds 1/100 verdund met *clinical laboratory reagent* (CLR) water, waarbij er minstens vier mL staal nodig is. Indien gekoeld of bevroren kan het staal tot 14 dagen na afname worden geanalyseerd. Indien op kamertemperatuur kan dit tot 72 uur na afname (21). De 24-uurs urinestalen vereisen,

indien tussen de afnames de container niet in de koelkast kan worden bewaard, de toevoeging van een bewaarmiddel. Deze wordt in de opvangcontainer gedaan vooraleer het staal gedurende de dag wordt gecollecteerd. Diazolidinyl ureum (5 mL) wordt verkozen als bewaarmiddel, maar ook azijnzuur 50%, boorzuur, 6M zoutzuur of thymol kunnen gebruikt worden. Vooraleer de analyse wordt uitgevoerd, wordt de urinaire pH bepaald. Indien deze groter is dan 8, kan dit wijzen op bacteriële contaminatie en wordt de test niet uitgevoerd. Ook hier wordt het staal eerst 1/100 verdund voordat het wordt geanalyseerd op de Roche Cobas c501. Voor de analyse is er minstens één mL nodig (22).

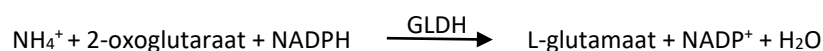
Uit de beperkte literatuur die gevonden werd kan geconcludeerd worden dat indien de analyse wordt uitgevoerd met behulp van een assay gevalideerd voor de bepaling van ammoniak in plasma, er verdunningen moeten worden gemaakt in functie van het meetbereik van de te gebruiken assay. De analyses kunnen in principe onmiddellijk uitgevoerd worden wanneer het laboratorium het staal op kamertemperatuur ontvangt. Tevens zou er een mogelijkheid bestaan om de stalen in batch te analyseren, zoals bijvoorbeeld één keer per week, indien de urinestalen worden bewaard bij 4°C (koelkast) of -20°C (diepvries).

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

In de besproken studies bij vraag 2 werd meestal gebruik gemaakt van directe assays die in de routine worden gebruikt en gevalideerd zijn voor de analyse van ammoniak in plasma. Ook in de *Mayo Clinic Laboratories* wordt de analyse van urinair ammonium op deze manier bepaald (21,22). Tot op vandaag bepalen weinig laboratoria urinair ammonium omdat oudere, historische technieken specifieke toestellen vereisen die vaak niet voorhanden zijn en omdat deze erg arbeidsintensief zijn. Anderzijds zijn laboratoria ook niet snel geneigd om hun routinetoestellen voor de bepaling van ammoniak in plasma te gebruiken om urinair ammonium te bepalen, omdat de toestellen er vaak niet voor gevalideerd zijn. Laboratoria zijn vaak ook afgeschrikt door een moeilijke staal(voor)behandeling (15). Zoals aangegeven in vraag 2 kan echter worden aangetoond dat deze staal(voor)behandeling veel minder arbeidsintensief is dan men initieel zou denken.

Enkele historische technieken voor het bepalen van de urinaire ammoniumconcentratie zijn bijvoorbeeld door middel van het gebruik van het Nessler reagens (23) of door colorimetrie (24). Eventueel kan urinair ammonium gemeten worden via een directe ammoniumelektrode, zoals bijvoorbeeld de Philips IS 560-ammonium elektrode (25). In deze CAT wordt niet verder ingegaan op deze technieken, daar we de focus willen leggen op een haalbare implementatie van de bepaling van urinair ammonium in de routine.

De studie van Cardo et al. heeft urinaire ammoniumconcentraties op de Cobas c501 bepaald (15). Het principe van de bepaling is een enzymatische UV-techniek waarbij gebruik wordt gemaakt van glutamaatdehydrogenase (GLDH). GLDH katalyseert de reductieve aminatie van NH_4^+ met 2-oxoglutaraat en NADPH als co-enzyme. Hierbij worden L-glutamaat, NADP^+ en water (H_2O) gevormd:



De concentratie NH_4^+ aanwezig in het staal is equivalent met de gevormde concentratie NADP^+ en wordt fotometrisch gemeten als een daling in absorbantie (15,19). Daar er geen beschikbare controles voorhanden zijn, heeft men in de studie gebruik gemaakt van drie 'in-huis' controles: urinestalen gespiked met een gekende concentratie ammoniumjodide, de *Lyphochek Quantitative Urine Control level 2* en enkele random geselecteerde humane urinestalen. Alle stalen werden gedurende 20 dagen dagelijks geanalyseerd. Er kon een goede herhaalbaarheid (CVs = 4.7% en 4.2%) en reproduceerbaarheid (CVs = 5.6% en 4.2%) worden aangetoond. Voor de urinestalen gespiked met ammoniumjodide werd een goede lineariteit bekomen, met een recovery die varieerde van 98% tot 120% (gemiddelde ($\bar{x}$) $\pm$ SD = 107.7% $\pm$ 7.1%). Hieruit kan geconcludeerd worden dat er geen matrixeffect interfereert met de bepaling (15).

Een andere studie heeft urinestalen geanalyseerd voor urinair ammonium met behulp van de Roche Modular en Abbott Architect ci 8200. Beide toestellen zijn gevalideerd voor de bepaling van ammoniak in plasma op basis van dezelfde enzymatische assay zoals hoger beschreven voor de Cobas c501. Er werden zowel blanco stalen als urinestalen gespiked met NH_4Cl geanalyseerd. Elk staal werd in duplo geanalyseerd per toestel. Beide toestellen

vertoonden een goede recovery voor de gespikeerde stalen: $\bar{x} \pm SD = 93.9\% \pm 4.1\%$ voor de Roche Modular en $\bar{x} \pm SD = 92.0\% \pm 11.7\%$ voor de Abbott Architect ci 8200 (18).

Verder werden de bijsluiters voor de bepaling van ammonium in plasma van de firma's *Fisher Diagnostics* (Beckman Coulter AU Chemistry Analyzers), *Siemens Healthineers* (Atellica® CH Analyzer) en *Abbott Laboratories* (Alinity c) geraadpleegd. Deze assays gebruiken dezelfde analysemethode (enzymatisch en fotometrie) als de Cobas c501 en de Abbott Architect ci 8200 (26–28). Vandaar de veronderstelling dat de conclusies uit voorgaande studies kunnen worden doorgetrokken naar deze toestellen, mits validatie van de assays.

De analyse van urinair ammonium lijkt een haalbare optie in de routine. De toestellen die op dit moment in de verschillende laboratoria worden gebruikt voor de analyse van ammoniak in plasma kunnen, mits analytische en klinische validatie, worden gebruikt voor de analyse van ammonium in urine.

TO DO/ACTIONS

Opstarten van een validatieproject om urinair ammonium te bepalen op de Roche Cobas c702 in Laboratoriumgeneeskunde UZ Leuven. Hierbij dient er eerst een analytische validatie van het toestel te gebeuren, gevolgd door een klinische validatie in samenwerking met de dienst (kinder)nefrologie. Voor deze klinische validatie kunnen de metingen van urinair ammonium in parallel gebeuren met de bepaling van de UAG en UOG.

RELEVANT EVIDENCE/REFERENCES

1. Penney MD, Oleesky DA. Renal Tubular Acidosis. *Ann Clin Biochem.* 1999;36:408–22.
2. Ring T, Frische S, Nielsen S. Clinical review: Renal tubular acidosis - A physicochemical approach. *Crit Care.* 2005;9(6):573–80.
3. Giglio S, Montini G, Trepiccione F, Gambaro G, Emma F. Distal renal tubular acidosis: a systematic approach from diagnosis to treatment. *J Nephrol.* 2021;34(6):2073–83.
4. Raphael KL, Yee J. It Is Really Time for Ammonium Measurement. *Adv Chronic Kidney Dis.* 2018;25(4):297–300.
5. Orphanet. Proximal renal tubular acidosis [Internet]. [cited 2022 Apr 20]. Available from: https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?lng=en&Expert=47159
6. Orphanet. Distal renal tubular acidosis [Internet]. [cited 2022 Apr 20]. Available from: https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?lng=en&Expert=18
7. Bianic, F. Guelfucci, F. Robin, L. Martre, C. Game, D. Bockenhauer D. Epidemiology of distal renal tubular acidosis, a study using linked UK primary care and hospital data. Syneos Health. 2018.
8. Silva C, Law L, Li-McLeod J, Greenbaum L. Estimate of prevalence of primary distal renal tubular acidosis among the us population with employer-sponsored health insurance. *VALUE HEAL.* 2019 May 1 [cited 2022 Apr 20];22:S384.
9. Trepiccione F, Walsh SB, Ariceta G, Boyer O, Emma F, Camilla R, et al. Distal renal tubular acidosis: ERKNet/ESPN clinical practice points. *Nephrol Dial Transplant.* 2021;36(9):1585–96.
10. Thomas L. Renal electrolyte excretion. In: *Clinical laboratory diagnostics.* First Engl. Frankfurt, Germany: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 314–6.
11. Rodríguez Soriano J. Renal tubular acidosis: The clinical entity. *J Am Soc Nephrol.* 2002;13(8):2160–70.

12. Emmet M, Palmer BF. Urine anion and osmolal gaps in metabolic acidosis [Internet]. UpToDate. 2021 [cited 2022 Mar 5]. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/urine-anion-and-osmolal-gaps-in-metabolic-acidosis#H3>
13. Katagawa K, Nagashima T, Inase N, Kanayama M, Chida M, Sasaki S, et al. Urinary ammonium measurement by the auto-analyzer method. *Kidney Int.* 1989;36(2):291–4.
14. 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.
15. Cardo L, Gil-Peña H, García-García M, Fernández JC, Santos F, Álvarez F V. Implementation of an automated method for direct quantification of urinary ammonium. *Clin Chem Lab Med.* 2019;57(8):203–5.
16. Uribarri J, Oh MS. The urine anion gap: Common misconceptions. *J Am Soc Nephrol.* 2021;32(5):1025–8.
17. Kamel KS, Halperin ML. Use of Urine Electrolytes and Urine Osmolality in the Clinical Diagnosis of Fluid, Electrolytes, and Acid-Base Disorders. *Kidney Int Reports.* 2021;6(5):1211–24.
18. Ha LY, Chiu WW, Davidson JS. Direct urine ammonium measurement: Time to discard urine anion and osmolar gaps. *Ann Clin Biochem.* 2012;49(6):606–8.
19. Roche Diagnostics. NH3L2. Mannheim: Roche Diagnostics; 2020. p. 1–3.
20. Hashim IA, Cuthbert JA. Elevated ammonia concentrations: Potential for pre-analytical and analytical contributing factors. *Clin Biochem.* 2014;47(16–17):233–6.
21. Mayo Foundation for Medical Education and Research. Overview: Ammonium, Random, Urine [Internet]. 2022 [cited 2022 Mar 4]. Available from: <https://www.mayocliniclabs.com/test-catalog/overview/606709#Overview>
22. Mayo Foundation for Medical Education and Research. Overview: Ammonium, 24 Hour, Urine [Internet]. 2022 [cited 2022 Mar 4]. Available from: <https://www.mayocliniclabs.com/test-catalog/overview/606643#Overview>
23. Hartley TF. A Semi-automated Method for the Determination of Ammonia in Urine using the Nessler Reaction. 1974;11:137–40.
24. Picken A. A Colorimetric Method for the Direct Estimation of Ammonia in Urine. *Biochem J.* 1924;18(5):806–8.
25. Hoge JHC, Hazenberg HJA, Gips CH. Determination of ammonia in urine with an ammonium electrode and with a direct method. *Clin Chim Acta.* 1974;55(3):273–9.
26. Siemens Healthcare Diagnostics Inc. Ammonia (Amm). Erlangen: Siemens Healthcare Diagnostics Inc.; 2020. p. 1–14.
27. Fisher Diagnostics. Infinity Ammonia Reagent for Beckman Coulter AU Chemistry Analyzers. Middletown USA: Fisher Diagnostics; 2020. p. 1–2.
28. Abbott Laboratories. Ammonia Ultra Reagent Kit. Milano: Abbott Laboratories; 2018. p. 5.