

Determinación cuantitativa de Amoníaco IVD

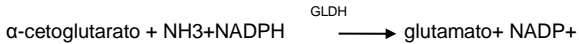
Conservar a 2-8°C

USO PREVISTO

Para determinación cuantitativa *in vitro* de Amoníaco en plasma.

PRINCIPIO DEL METODO^(1, 4, 5)

El amoníaco se combina con α-cetoglutarato y NADPH en presencia de glutamato deshidrogenasa (GLDH) para producir glutamato y NADP+. El correspondiente descenso de absorbancia a 340 nm es proporcional a la concentración de amoníaco en plasma.



SIGNIFICADO CLINICO

La principal fuente de difusión de amoníaco es el tracto gastrointestinal. En condiciones normales, el amoníaco es metabolizado a urea por las enzimas del hígado. Varias enfermedades, tanto congénitas como adquiridas, causan incrementos de amoníaco (hiperamoniemia). La causa principal de hiperamoniemia en los bebés es la deficiencia hereditaria de enzimas del ciclo de la urea. Las enfermedades de hiperamoniemia adquiridas son causadas por enfermedad hepática, insuficiencia renal, y síndrome de Reye. Un nivel alto de amoníaco es tóxico para el sistema nervioso central.

REACTIVOS

R 1a Reactivo	NADPH α-cetoglutarato	0,26 mmol/L 3,88 mmol/L
R1b Tampón	Trietanolamina pH 8,6	0,15 mol/L
R2	GLDH	≥1200 U/mL
CAL	La concentración del estándar de amoníaco es la que viene indicada en la etiqueta del vial.	
OPCIONAL	Control de Amoníaco 4x2 mL ref.1002240	

PRECAUCIONES

R1b: H315-Provoca irritación cutánea. H319-Provoca irritación ocular grave.
Seguir los consejos de prudencia indicados en la FDS y etiqueta del producto.

PREPARACION

- **R1a – R1b** Reconstituir el contenido de un vial de R1a con 5 mL de R1b tampón.
- **R2 – CAL** Listos para su uso.
- Para la utilización de este reactivo en analizadores automáticos, se debe diluir R2 con 20 mL de R1b.

CONSERVACION Y ESTABILIDAD

R1 (reactivo reconstituido con el tampón) es estable 5 días a 15-25 °C o 3 semanas a 2-8 °C, conservado en ausencia de contaminación bacteriana. El resto de componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 340 nm.
- Baño termostatable a 37°C (± 0,1°C)
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio ^(Nota 1).

MUESTRAS⁽²⁾

Plasma heparinizado o EDTA plasma.
Extraer sangre sin hemólisis y almacenar en baño de hielo. Separar el plasma o suero de los eritrocitos dentro de los 30 minutos después de la extracción. El ensayo de amoníaco se debe realizar inmediatamente. El plasma se puede conservar 2 horas a 2-8 °C.

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
Longitud de onda: 340 nm
*Cubeta: 1 cm paso de luz
Temperatura constante: 25/30/37°C
*Se sugiere usar cubetas desechables en lugar de cubetas de flujo, para evitar posibles contaminaciones en analizadores manuales.
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.

3. Pipetear en la cubeta:

	Blanco RT	Estándar	Muestra
Muestra	----	----	0,1 mL
Agua destilada	0,1 mL	----	----
Estándar	----	0,1 mL	----
Reactivo (R1)	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

- Mezclar, y dejar reposar durante 5 min. Leer la absorbancia inicial de la muestra y del blanco (A1).

5. Añadir entonces:

GLDH (R2)	0,01 mL	0,01 mL	0,01 mL

- Mezclar e incubar durante 5 min. Leer la absorbancia final de la muestra y blanco (A2).

CALCULOS

$$A_{\text{blanco}} = \text{Blanco } A_1 - \text{Blanco } A_2$$

$$A_{\text{muestra}} = \text{Muestra } A_1 - \text{Muestra } A_2$$

$$\text{Conc. de Amoníaco} = \frac{A_{\text{muestra}} - A_{\text{blanco}}}{A_{\text{estandar}} - A_{\text{blanco}}} \times \text{Conc. estándar}$$

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados: Control de Amoníaco 4x2 mL ref.1002240. Se debe ensayar el control al menos una vez al día. Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el instrumento, los reactivos y la técnica. Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA⁽²⁾

Amoníaco en plasma:	10	-	47 μmol/L
	0,17	-	0,80 μg/mL
	0,017	-	0,080 mg/dL

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERISTICAS DEL METODO

Linealidad: El método es lineal hasta 1180 μmol/L (20 μg/mL, 2 mg/dL). Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/2 con CIna 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Sensibilidad: La mínima concentración detectable con un nivel de precisión aceptable, se determinó como 23,4 μmol/L (0,39 μg/mL).

Precisión:

	Intraserie (n=43)			Interserie (n=43)		
Media (μmol/L)	66,86	162,23	403,26	66,86	162,23	403,26
SD	2,86	3,16	4,10	4,72	10,49	11,69
CV (%)	4,3	1,9	1,0	7,1	6,5	2,9

Exactitud: Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 56 muestras de pacientes con concentraciones de 16,57 hasta 881 μmol/L fueron los siguientes:

Coefficiente de regresión (r)²: 1,0.

Ecuación de la recta de regresión: y = 1,02x – 7,33.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS⁽³⁾

La hemólisis interfiere en el ensayo.

NOTAS

- A fin de evitar contaminaciones se recomienda utilizar material de plástico de un solo uso.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.**

BIBLIOGRAFIA

- Dewan, J.G., Biochem J., 1938; **32**: 1378.
- Mondzac, A., Ehrlich, G.E., Seegmiller, J.E., J Lab Clin. Med., 1965; **66**: 526.
- Howanowitz, J.H., Howanowitz, P.J., Skrodzki, C.A., Iwanski, J.A: Clin. Chem., 1984; **30**:906.
- Neely, W.E., Phillipson, J., Clin Chem, 1988; **34**:1868.
- Pesh-Iman, M., Kumar, S., Willis, C.E., Clin. Chem., 1978; **24**:2044.

PRESENTACION

Ref: 1001410

Cont.

 R1a:8 → 5 mL,R1b:1 x 60 mL,R2:1 x 1 mL,CAL:1 x 5.5 mL