

מס' ההוראה: CHE - 007	מעבדה כימית - ביה"ח בילינסון	הוראת עבודה לביצוע בדיקת אמוניה בדם
עמוד 1 מתוך 7	מהדורה מס' 2	תחולה : דצמבר 2003

## הוראת עבודה לביצוע אמוניה בדם

תודתנו נתונה למעבדת כימיה, ביה"ח בילינסון, אשר תרמה את הנוהל שלה  
כבסיס לעבודת הצוות.

### נוהל הדוגמא הוכן לפרסום ונערך ע"י:

דורון עמיחי – סגן מנהל מעבדה ביוכימית, ביה"ח סורוקה  
רות תור – סגנית מנהלת המעבדה ביוכימית, ביה"ח בילינסון  
דניאלה הראל – מנהלת מעבדה כימית, בי"ח בילינסון  
נורית אלגור – מנהלת מעבדת כימיה ואנדוקרינולוגיה, ביה"ח שערי צדק  
בלהה פורר – מנהלת מעבדת ביוכימית, ביה"ח הלל יפה  
רבקה רוסטוקר – מנהלת מעבדה דחופה, ביה"ח הלל יפה  
אבי מגזניק – מנהלת מעבדה ביוכימית, קמפוס גולדה ביה"ח השרון  
נטע שורץ – סגנית מנהל מעבדת כימיה, ביה"ח העמק  
דינה פרין שכטר – הבטחת איכות, ביה"ח הכרמל  
יפתח פינקלשטיין – מנהל מעבדות, ביה"ח פוריה  
רותי הוברמן – יועצת בכירה  
שרה שטרייכמן – יועצת בכירה  
צבי לרנר – מנהל מעבדה, ביה"ח קפלן

מסמך זה הינו דוגמא בלבד, וכל שימוש בו הוא באחריות המשתמש בלבד. המסמך אינו מחייב  
מעבדות לעבוד על פיו, מעבדה המעוניינת להשתמש בדוגמא מחויבת להתאים את תוכן הנוהל  
לתהליכים המתקיימים בה.

CHE - 007 : מס' ההוראה:	מעבדה כימית - ביה"ח בילינסון	הוראת עבודה לביצוע בדיקת אמוניה בדם
עמוד 2 מתוך 7	מהדורה מס' 2	תחולה : דצמבר 2003

## הוראת עבודה לביצוע אמוניה בדם

### תוכן העניינים

1. כללי .
2. חומרים
3. קבלה וטיפול בדגימה .
4. השיטה.
5. כיוול.
6. בקרת איכות .
7. טיפול בתוצאות. .

### רשימת נספחים

1. נספח מס' 1 : הוראת היצרן לבדיקת אמוניה - חברת ROCHE – מכשיר ה - HITACHI 911 .
2. נספח מס' 2 : הוראת היצרן לבדיקת אמוניה - חברת ROCHE - מכשיר ה - INTEGRA 800 .
3. נספח מס' 3 : הוראות היצרן : קליברטור למכשיר ה - HITACHI 911 , חברת Roche ,  
Precical : Ethyl Alcohol / Ammonia / Lactate .
4. נספח מס' 4 : הוראות היצרן : קליברטור למכשיר ה - INTEGRA , חברת Roche ,  
Ammonia / Ethanol / CO2 Calibrator .
5. נספח מס' 5 : הוראות היצרן לבקרים : חברת Roche ,  
Ammonia / Ethanol / CO2 Control Level 1 & 2 .
6. נספח מס' 6 : הוראות היצרן לבקרים : חברת BIO - RAD ,  
Liquichek, Ethanol / Ammonia Control , Level 1.

### רשימת איזכורים

1. הוראת עבודה לקבלה ומיון דגימות, CLA- 001 .
2. הוראת עבודה לטיפול במכשיר ה HITACHI 911 : CHE - 002 .
3. הוראת עבודה לטיפול במכשיר ה INTEGRA 800 : CHE-005 .

חתימה	תאריך		
<i>צ'רמלה מנלה</i> <i>צ'ר' רותי תור</i>	16.12.03	ז'הבה מנלה דר' רותי תור	נכתב ע"י
<i>צ'ר' דניאלה הראל</i>	16.12.03	דר' דניאלה הראל	אושר ע"י

מס' ההוראה: CHE - 007	מעבדה כימית - ביה"ח בילינסון	הוראת עבודה לביצוע בדיקת אמוניה בדם
עמוד 3 מתוך 7	מהדורה מס' 2	תחולה : דצמבר 2003

## 1. כללי

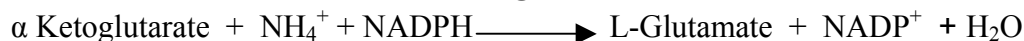
### 1.1 מטרה

הוראת העבודה נועדה לפרט את אופן קבלה וביצוע של בדיקת אמוניה בדם, המבוצעת במעבדה הכימית הדחופה במכשירי ה - HITACHI 911 וה - INTEGRA 800. הבדיקה מבוצעת על אחד משני המכשירים כתלות בשיקולים לוגיסטיים מקומיים ונקודתיים.

### 1.2 עיקרון הבדיקה

בדיקת אמוניה בדם מבוססת על הראקציה האנזימטית הבאה ( נספח מס' 1 ):

#### GLDH



כמות ה - NADPH המחומצן במהלך הראקציה, אקווילנטית לכמות האמוניה בדגימה, נמדדת באורך גל של 340 nm.

אמוניה נוצרת ב - gastrointestinal tract בתהליכי המטבוליזם של תרכובות החנקן.

עודף אמוניה הוא טוקסי למערכת העצבים המרכזית ומסולק דרך מטבוליזם בכבד

(מעגל Krebs-Henseleit) בו הופכת האמוניה לאוראה.

בדיקת אמוניה משמשת לאבחנה וטיפול במחלות כבד דוגמת:

.Cirrhosis, Hepatitis, Reye's Syndrome

### 1.3 ערכי הייחוס

ערכי הייחוס:

M: 25-94 µg/dl

F: 19-82 µg/dl

0-10 days: 170-341 µg/dl : יילודים

### 1.4 רגישות אנליטית ( Lower detection limit ):

❖ 10 µg/dl = HITACHI 911

❖ 14 µg/dl = INTEGRA 800

מס' ההוראה: CHE - 007	מעבדה כימית - ביה"ח בילינסון	הוראת עבודה לביצוע בדיקת אמוניה בדם
עמוד 4 מתוך 7	מהדורה מס' 2	תחולה : דצמבר 2003

## 2. תומרים

שם המגיב	שם החברה	מיקום במעבדה	מק"ט יצרן	מק"ט קופ"ח
NH3, Ammonia, kit for Hitachi 911	Roche	מקרר	11877984	1/12101230/2
Ammonia, Cobas, kit for Integra 800	Roche	מקרר	2056291	1/55210135/5
Precical : Ethyl Alcohol, Ammonia , Lactate, for Hitachi 911.	Roche	מקרר	1775804	1/55405753/1
Ammonia / Ethanol / CO <sub>2</sub> , Calibrator for Integra 800	Roche	מקרר	20751995	1/12500337/5
Ammonia / Ethanol / CO <sub>2</sub> , Control Normal.	Roche	מקרר	20752401	1/2500338/3
Ammonia / Ethanol / CO <sub>2</sub> , Control Abnormal.	Roche	מקרר	20753009	1/12500339/1
Liquichek, Ethanol / Ammonia Control , Level 1.	Bio - Rad	מקרר	544	

## 3. קבלה וטיפול בדגימה

### 3.1 אופן לקיחת הדגימה

- א. דגימת דם מלא תילקח במבחנת EDTA ( פקק סגול ).
- ב. יש לערבב היטב את הדגימה ולשלוח אותה בקרח מיידית .
- ג. סימון הדגימה יעשה בהתאם להוראת העבודה לקבלה ומיון דגימות CLA-001 ( איזכור מס' 1 ).

ד. קליטת הדגימה מיחשובית תיעשה בקוד 455 .

### 3.2 טיפול והכנת הדגימה

- א. תהליך הטיפול בדגימה לא יאוחר מ 10 דקות מהגעת הדגימה למעבדה.
- ב. סירכוז הדגימה בצינטרפוגה מקוררת יבוצע במהירות 3000 RPM למשך 10 דקות. בתום הסירכוז יש להפריד את הפלסמה, להעבירה למבחנת עזר מסומנת באותו מס' של דגימת המקור ולפקוק אותה.
- ג. יש לאחסן את דגימת הפלסמה המופרדת **בקירור** ( 2 – 8 ° C ) עד ביצוע הבדיקה.
- ד. ביצוע הבדיקה יהא **תוך שעתיים** מרגע הפרדת הפלסמה.

### 3.3 מדדים לפסילת דגימות

ככלל, בכל מקרה בו הדגימה נפסלת, יש לציין את סיבת הפסילה בהערה במחשב .

א. דגימה, שעמדה מעבר ל 3 שעות במעבדה, לאחר סירכוז הפרדה וקירור, לא תבוצע.

מס' ההוראה: CHE - 007	מעבדה כימית - ביה"ח בילינסון	הוראת עבודה לביצוע בדיקת אמוניה בדם
עמוד 5 מתוך 7	מהדורה מס' 2	תחולה : דצמבר 2003

#### ב. המוליזה

- ❖ בכדוריות האדומות ערכי האמוניה גבוהים פי 3 מערכם בפלסמה, לכן אין לבצע את הבדיקה בדגימות המוליטיות.
- ❖ היה והגורם השולח עומד על כך שהבדיקה תבוצע בפלסמה המוליטית, או במקרים אחרים על פי שיקול דעתו של המבצע, יש להוציא את התשובה ולציין בהערה: פלסמה המוליטית או המוליטית מאד, וקוד הערה 328.
- ( "ערך האנליט מושפע מהמוליזה" ).

#### ג. ליפמיה

דגימות המכילות  $\text{Trig} > 400 \text{ mg/dl}$  לא תבוצענה.

### 4. השיטה

#### 4.1 הכנת המגיבים למכשיר ה - HITACHI 911

הבדיקה מבוצעת במכשיר ה - HITACHI 911. הוראות הפעלה ותחזוקה של המכשיר מפורטת ב"הוראת עבודה לטיפול במכשיר ה - HITACHI 911 ( CHE-002 ), איזכור מס' 2. מידע על המגיבים ואופן הבדיקה מצוי בנספח מס' 1.

##### 4.1.1 הכנת מגיב R1

- ❖ מגיב R1 ( בקבוק לבן עם פקק לבן ) מגיע **מוכן לשימוש**.
- ❖ החומר יציב ל 28 ימים לאחר פתיחה כשהוא נמצא במכשיר, מקורר ומוגן מזיהום.

##### 4.1.2 הכנת מגיב R2

###### א. שלב 1

- ❖ להמיס בקבוק 2b ( GLDH - בקבוק חום, קטן עם פקק שחור ) עם 0.5 מ"ל מתוך בקבוק 2a ( בופר פוספט - בקבוק לבן עם פקק שחור ).
- ❖ להשאיר 10 דקות בטמפרטורת החדר, לערבב מידי פעם בעדינות.
- ❖ הריאגנט יציב ל 42 ימים בטמפרטורה של  $8^\circ\text{C} - 2$ , כשהוא סגור הרמטית.

###### ב. שלב 2

- ❖ להמיס בקבוק 2 (  $\text{NADPH}^+$  - בקבוק חום, פקק שחור ) עם 4.5 מ"ל מתוך בקבוק 2a ( בופר פוספט ).
- ❖ לערבב בעדינות.

###### ג. שלב 3

- ❖ הוסף 150 מ"ל מבקבוק 2b המומס לתוך בקבוק 2 משלב 2.
- ❖ ערבב בעדינות.
- ❖ העבר את הנוזל המומס בעזרת האדפטור לבקבוק R2 ריק.
- ❖ הרחק בועות אוויר.
- ❖ הריאגנט **יציב ל 14 ימים** במצב פתוח ומקורר במכשיר, כשהוא מוגן מזיהום.

#### 4.1.3 הערות כלליות

- לפני ביצוע הבדיקה במכשיר ה - HITACHI יש **לשים דגש על הנקודות הבאות** :
- א. יש לערבב את המגיבים R1 ו - R2 שנית סמוך לבצוע הבדיקה.
- ב. יש לוודא כי המכשיר כויל לבדיקת אמוניה במרווח הכיולים המותר, כלומר כל 6 שעות.
- ג. לפני כל כיוול יש להחליף את הסליין, בקרים וקליברטור לחומרים טריים.

מס' ההוראה: CHE - 007	מעבדה כימית - ביה"ח בילינסון	הוראת עבודה לביצוע בדיקת אמוניה בדם
עמוד 6 מתוך 7	מהדורה מס' 2	תחולה : דצמבר 2003

4.2 ביצוע הבדיקה במכשיר ה- INTEGRA 800 (נספח מס' 2)  
הבדיקה מבוצעת במכשיר ה- INTEGRA 800. הוראות הפעלה ותחזוקה של המכשיר מפורטת ב"הוראת עבודה לטיפול במכשיר ה- INTEGRA 800" (CHE-005), איזכור מס' 3. מידע על המגיבים ואופן הבדיקה מצוי בנספח מס' 2.  
4.2.1 קסטה לבדיקת אמוניה מכילה 150 בדיקות.  
4.2.2 אורך חיי הקסטה לאחר פתיחתה (בתוך המכשיר) 12 שבועות.

4.3 הנחיות מיוחדות  
אין לבצע את הבדיקה במכשיר בו מצויות דגימות שתן.

5. כיוול  
5.1 אופן ביצוע הכיוול

INTEGRA 800	HITACHI 911	
Ammonia / Ethanol / CO <sub>2</sub> , Calibrator for Integra 800 תוצרת חברת Roche Cat. No 20751995 (נספח מס' 4)	Precical : Ethyl Alcohol / Ammonia / Lactate, for Hitachi 911. תוצרת חברת Roche Cat. No 1775804 (נספח מס' 3)	סוג הקליברטור
❖ בעת החלפת Lot של קסטה. ❖ על פי תוצאות הבקרים.	❖ אחת ל 6 שעות, כתלות בהגעת הדגימות. ❖ בעת החלפת Lot של ריאגנט. ❖ על פי תוצאות הבקרים.	תדירות הכיוולים
❖ הקליברטור מוכן לשימוש ומצוי במקרר התורנים (מקרר). ❖ יש לערבבו בעדינות ולהעביר את הכמות רצויה ל Sample Cup. ❖ יש לסגור את הבקבוק במהירות ולהחזירו למקרר. ❖ יש לבצע את הכיוול מיידית, <b>אין להשאיר את הקליברטור במכשיר מעבר ל 5 דקות !</b>		אופן ההכנה והשימוש

5.2 מדדים לקבלה או דחיה של הכיוול  
קבלה או דחיה של הכיוול תיעשה על פי מדדי המכשירים הבנויים על פי הוראות היצרן ובקרת איכות פנימית תקינה.

מס' ההוראה: CHE - 007	מעבדה כימית - ביה"ח בילינסון	הוראת עבודה לביצוע בדיקת אמוניה בדם
עמוד 7 מתוך 7	מהדורה מס' 2	תחולה : דצמבר 2003

## 6. בקרת איכות

### 6.1 בקרת איכות פנימית

א. תדירות בקרת האיכות :

- ❖ במכשיר ה - HITACHI 911 : לאחר כל כיוול יש להריץ את שני הבקרים 1&2 Level .
  - ❖ במכשיר ה - INTEGRA : יש להריץ את שני הבקרים, אחת ליום , לאחר BOD .
- ב. אופן ההכנה ושימוש בבקרים :
- ❖ הבקר מוכן לשימוש ומצוי במקרר התורנים.
  - ❖ יש להוציאו מהמקרר, להביאו לטמפרטורת החדר ( 20 - 25 C° ) .
  - ❖ יש לערבבו בעדינות ולהעביר את הכמות הדרושה ל Sample Cup.
  - ❖ יש לסגור את הבקרים במהירות ולהחזירם למקרר.

### 6.2 בקרת איכות חיצונית

אין.

## 7. טיפול בתוצאות

7.1 הודעה טלפונית לגורם השולח תימסר, ותתועד במחשב, במקרים הבאים :

- א. תוצאה חריגה : ערכי אמוניה גבוהים ( מעל 400 µg/dl ) כתלות בהיסטוריה של הנבדק.
- ב. מקרים בהם אין התאמה להיסטוריה או מקרים הדורשים בירור מול הגורם השולח.

7.2 מדדים לחזרה על הבדיקה :

- א. תוצאה חריגה , מעל 400 µg/dl.
- ב. אי התאמה לתוצאה קודמת, לאחר התייעצות עם הגורם השולח.

7.3 יש לשים לב : ערכי LDH גבוהים מאד ( באלפים ) משפיעים לעיתים על תוצאות האמוניה , עד לכדי קבלת ערכים שליליים .