

AMMONIA

Determinazione Cromatografico – Colorimetrica
dell'Ammoniaca
nel Plasma e nelle Urine

20 test

REF KR03-20

USO PREVISTO

Kit per la determinazione quantitativa *in vitro* dell'Ammoniaca nel plasma e nelle urine.

PRINCIPIO DI REAZIONE

Lo ione ammonio viene adsorbito su una resina cationica equilibrata con un opportuno tampone. Dopo lavaggio delle sostanze interferenti, esso viene eluito e determinato quantitativamente mediante la reazione di Berthelot.

REAGENTI E MATERIALI

Composizione del kit:

REF KR03-20

REAGENT 1 Sodio idrato **1 x 35 ml**

AVVERTENZA: conservare ben chiuso.

***REAGENT 2** Fenolo-nitroprussiato **1 x 1 ml**

***REAGENT 3** Sodio ipoclorito-sodio idrato **1 x 2 ml**

REAGENT 4 Standard azoto ammoniacale 1.5 mg/L **1 x 4 ml**

COLUMN Colonne cromatografiche **20**

RESIN Resina per il trattamento dell'acqua. Per ottenere acqua esente da ione ammonio.

(*) I reagenti contrassegnati con l'asterisco contengono sostanze pericolose. Leggere le Schede di sicurezza.

STABILITA': i reagenti e i materiali sigillati sono stabili a 2-8°C fino alla data di scadenza riportata sulla confezione.

PREPARAZIONE DEI REAGENTI DI LAVORO

ACQUA ESENTE DA IONE AMMONIO

Per ottenere acqua esente da ione ammonio, aggiungere acqua deionizzata o distillata al flacone contenente la resina. Agitare per 20 secondi, quindi lasciare riposare la resina fino a completa sedimentazione.

La resina trattiene eventuali tracce di ammoniaca presenti nell'acqua. E' possibile utilizzarla più volte.

REAGENTE 2

Diluire il Reagent 2 a 50 ml. con acqua esente da ione ammonio e mescolare bene prima di utilizzarlo nel test.

STABILITA': almeno 6 mesi a 2-8°C.

REAGENTE 3

Diluire il Reagent 3 a 50 ml con acqua esente da ione ammonio e mescolare bene prima di utilizzarlo nel test.

STABILITA': almeno 6 mesi a 2-8°C.

CAMPIONE

Plasma

Raccogliere il sangue in una provetta da centrifuga contenente eparina come anticoagulante. Centrifugare e separare il plasma ponendolo in un bagno di ghiaccio in attesa dell'uso. Il test dovrebbe essere eseguito immediatamente, o con un ritardo massimo di 2 ore; in caso contrario congelare il plasma.

Non utilizzare sangue emolizzato.

Urine

Raccogliere le urine delle 24 ore in un contenitore con 2-3 ml di acido cloridrico concentrato. Mescolare bene e conservare a 2-8°C. Diluire 1 volume di urine con 99 volumi di acqua deionizzata prima del test.

PROCEDIMENTO

| | |
|---------------------|------------------------|
| Lunghezza d'onda: | 640 nm (630 - 650 nm) |
| Cammino ottico: | 1 cm |
| Lettura: | contro bianco reagente |
| Temperatura: | 37°C |
| Metodo: | colorimetrico endpoint |
| Linearità: | 750 µg/dl |
| Sensibilità: | 7.5 µg/dl |
| Recupero: | 95 ± 5 % |
| C.V. (intra-assay): | 1 % |
| C.V. (inter-assay): | 2 % |

PREPARAZIONE DELLA COLONNA

Togliere il tappo superiore, spezzare la lancetta di chiusura inferiore della colonna e lasciare defluire completamente il liquido.

Pipettare delicatamente nella colonna:

| | | |
|------------------------------|---------|-------------------|
| Campione | 0.5 ml | scartare l'eluato |
| Acqua esente da ione ammonio | 10.0 ml | scartare l'eluato |

| | | |
|------------------------------|--------|----------------------|
| Reagent 1 | 1.5 ml | raccogliere l'eluato |
| Acqua esente da ione ammonio | 1.0 ml | raccogliere l'eluato |

L'eluato del Reagent 1 e quello dell'acqua esente da ione ammonio vanno raccolti nella stessa provetta per un totale di 2,5 ml.

Miscelare accuratamente.

Pipettare in provette pulite contrassegnate:

| | Campione | Standard | Bianco Reagente |
|------------------------------|----------|----------|-----------------|
| Eluato | 2.0 ml | --- | --- |
| Reagent 4 | --- | 0.4 ml | --- |
| Acqua esente da ione ammonio | --- | 1.6 ml | 2.0 ml |
| Reagente 2 | 1.0 ml | 1.0 ml | 1.0 ml |
| Reagente 3 | 1.0 ml | 1.0 ml | 1.0 ml |

Mescolare con cura e incubare per 10 minuti esatti a 37°C. Leggere l'assorbanza del campione (Ac) e dello standard (Ast) contro il bianco reagente a 640 nm.

CALCOLO

Plasma

Azoto ammoniacale (µg/dl) = (Ac/Ast) x 150

Urine

Azoto ammoniacale (mg/L) = (Ac/Ast) x 150

VALORI DI RIFERIMENTO (espressi in azoto ammoniacale)

| | | |
|------------------------|------------|----------|
| Plasma venoso adulti | 45 - 80 | µg/dl |
| Plasma venoso neonati | 90 - 150 | µg/dl |
| Plasma venoso immaturi | > 150 | µg/dl |
| Urine adulti | 0.6 - 0.73 | g/24 ore |

OSSERVAZIONI

- Per ottenere risultati più esatti e riproducibili è necessario usare vetreria scrupolosamente pulita ed esente da ione ammonio, e non toccare con le dita tutte le parti che vengono a contatto con il campione e i reattivi.
- Nell'ambiente dove si effettua il test non devono essere presenti vapori di ammoniaca.
- Alle volte l'acqua può contenere delle clorammine, che non possono essere rimosse né con distillazione né con deionizzazione. In tale caso è opportuno effettuare un "Bianco Colonna" utilizzando 0,5 ml di acqua al posto del campione. Proseguire la determinazione come per il campione e infine leggere contro bianco. Se l'assorbanza ottenuta è diversa dal bianco reagente, occorre sottrarre tale valore alle assorbanze dei campioni.

BIBLIOGRAFIA

- S.G. Dienst et B. Morris, "J. Lab. Clin. Med." 64,495-500 (1964).



Edizione 01 - Ott 2021



Prodotto da: **FAR** srl

Via Fermi, 12 - 37026 Pescantina - VERONA - ITALY

Tel. +39 045 6700870 - Fax +39 045 7157763

sito web: <http://www.farddiag.com> e-mail: farddiag@farddiag.com