MEDICHEM®
MIDDLE EAST
Clinical Chemistry Reagents
Liquid Stable Reagents

الإجراء اليدوي

Ammonia الأمونيا

Cat. No. 12761
من أجل 24 تحليل

R1	1 x	20	ml
R2	1 x	4	ml
R3	1 x	1.2	ml

طريقة أنزيمية غير لونية

كاشف سائل

مبدأ الاختبار:

التحديد الأنزيمي للأمونيا يسمح بقياس مباشر للمركبات في البلازما و التي تتجنب الطرق الطويلة والمرهقة للفصل المستخدم في الطرق القديمة .الاختبار الأنزيمي يعطي حساسية عالية و طريقة محددة و دقيقة. ويعتمد هذا الاختبار على التفاعل التالي:

$$\alpha\text{-ketoglutarate} + NH_4^+ + NADH \xrightarrow{GLDH} \text{L-glutamate} + NAD^+ + H_2O$$

تتفاعل الأمونيا مع ألفا كيتو غلوتارات لينتج ل-غلوتامات مع أكسدة NADH إلى NAD بوجود وسيط من GLDH, كمية NADH المتأكسدة تساوي كمية الأمونيا في العينة. و تبدي نقصاناً في الامتصاصية عند طول موجة 340 نانومتر وهذا يعبر بشكل مباشر عن تركيز الأمونيا في العينة.

تركيب الكاشف :

Reagent R1		
Buffer pH =7.8	50	mmol/L
α-ketoglutarate	6.0	mmol/L
ADP	0.5	mmol/L
LDH	≥ 2	k U/L
EDTA	6.6	mmol/L
Stabilizer		
Reagent R2		
NADH	1.77	mmol/L
Reagent R3		
GLDH	≥ 14	k U/L
Standard concentration: As indicated on the bottle		

ثباتية الكاشف و تحضير محلول العمل:

كاشف R1: سائل.
كاشف R2: سائل.
كاشف R3: سائل جاهز للعمل.
كل الكواشف ثابتة خلال فترة الصلاحية المثبتة على اللصاقة عند التخزين في الدرجة 2-8 مْ.

محلول العمل:
نضيف 5 أحجام من كاشف R1 إلى حجم واحد من كاشف R2. نمزج بلطف.
محلول العمل ثابت مدة 14 يوماً في الدرجة 2- 8 مْ.

ملاحظة.

يجب أن يكون الكاشف رائقاً و خالياً من التلوث الجرثومي. ظهور هذه المؤشرات دليل على أن الكاشف غير جيد و يجب أن يستبعد.

جمع العينة و حفظها:

1 - عينة بلازما أو EDTA هي الأفضل, غير منحلة.
2 - يجب جمع عينة الدم من الوريد أو الشريان وهو حر دون حبس أو أية إعاقة للدم, في أنبوب EDTA خاص مفرغ من الهواء, لا تبقي فراغ في أنبوب العينة. احفظ العينة في الجليد حتى إجراء التحليل.
3 - يفصل البلازما عن الكريات الحمر بالسرعة الممكنة. لا تستخدم عينة منحلة.
4 - قد تحفظ عينة البلازما مغلقة بإحكام لمدة أقصاها ساعتين، مع بقاء العيّنة في الثلج أو مبرّدة.
5 - لا تقبل عينة المصل.

المعايرة:

معياري خاص Ammonia STD. Cat .No 16031

الجودة:

مصل شاهد طبيعي Ammonia/Ethanol control level 1 Cat. No. 15191
مصل شاهد مرضي Ammonia/Ethanol control level 2 Cat. No. 15201

الإجراء:

طول الموجة (فوتومتر)	Hg 340, 334, or 365 nm
طول الموجة (سبكتروفوتومتر)	340nm
حجرة القياس	1 cm المسار الضوئي
درجة الحرارة	20 – 25 °C
القياس	مقابل الماء المقطر
التفاعل	الزمن الثابت

التحليل:

	المعياري	العينة
العياري	200 µl	--
العينة	--	200 µl
محلول العمل	1000 µl	1000 µl
امزج بشكل جيد و احضن مدة 4 دقائق. أقرأ الامتصاصية الضوئية مقابل الماء المقطر (A1) . يجب أن تصحّح القراءة (A 1) للتعويض عن إضافة حجم الكاشف R3.(A1 x 0.96=A1c)		
الكاشفR3	50 µl	50 µl
امزج بشكل جيد و احضن مدة 5 دقائق. أقرأ الامتصاصية الضوئية مقابل الماء المقطر (A2) . احسب التغير في الامتصاصية ΔA . ΔA=A1c – A2		

الحساب:

يمكن أن تحصل على النتيجة بإجراء الإختبار ضد عامل المعايرة F أو بإستعمال معياري الأمّونيا.

عامل المعايرة F:

تركيز الأمونيا (µmol/L) = $1005 \times \Delta A_{\text{العينة}}$ (340 nm)

المعياري:

$$\text{تركيز}_{\text{الامونيا}}\ (\mu mol/L) = \frac{\Delta A_{\text{العينة}}}{\Delta A_{\text{العياري}}} \times \text{تركيز}_{\text{العياري}}\ (\mu mol/L)$$

معامل التحويل بين الواحدات:

µmol/L ← X 1.703 — µg/dl
µmol/L — 0.587 X → µg/dl

الخطية:

حتى: 600 µmol/L (10.2 mg/l)
العينة ذات النتيجة أعلى من 600 µmol/L يجب أن تمدد بماء مقطر منتج حديثاً خال من الأمونيا بنسبة (1+2) و بإعادة التحليل نضرب النتيجة بـ 3.

المجال الطبيعي:

حديثي الولادة	اليوم الأول	< 245 µg/dl	< 143.8 µmol/L
	5- 6 أيام	< 228 µg/dl	< 133.8 µmol/L
الرّضَع والأطفال		< 82 µg/dl	< 48.10 µmol/L
البالغين	نساء	< 82 µg/dl	< 48.10 µmol/L
	رجال	< 94 µg/dl	< 55.17 µmol/L

In vitro diagnostics First edition 2010

Medichem Middle East Aleppo - Syria, E-mail: info@medichem-me.com

التداخلات:

1 - إنّ التداخل الرئيسي لهذه التجربة من التلوّث بالأمّونيا في الهواء والماء.
2 - المتغيّرات التحليلية و الفزيولوجية بما في ذلك المخدّرات والمواد الأخرى التي تؤثّر على تجمعّات الأمّونيا أدرجا في كتاب Young *et. al.*

التحذيرات:

1. تجنب التلوّث بالأمّونيا من الهواء والماء و الزجاجيات.
2. تجنب التدخين و أي أثر للتدخين في المختبر حيث تجري التجربة. والفاحص القائم بالتجربة يجب أن يكون غير مدخن. إذا كان المريض مدخناً فيجب تنظيف مكان بزل الوريد بشكل جيد. يجب أن يسحب الدمّ في غرفة يمنع التدخين فيها.
3. تحذير: يحتوي الكاشف على أزيد الصوديوم كمادة حافظة. و من المحتمل أن يرتبط مع أملاح النحاس أو الرصاص ليشكل أزيدات المعادن المتفجرة, لذلك بعد طرح الكاشف المستخدم اغسل بكمية كبيرة من الماء لمنع ارتباط الأزيد.
4. هذا الكاشف يجب أن يبقى مغلقاً لتفادي التلوّث بالأمّونيا من جو المختبر. المعادن الثقيلة ستتدخّل أيضا في ردّ الفعل بتثبيط أنزيم الـ GLDH.

المراجع:

1. Bablok W et at. A General Regression Procedure for Method Transformation. J, Clin. Chem., Clin. Biochem. 1988; 26:783-790.
2. Berthelot MPE. Repert Chem Appl. 1859:282.
3. Da Fonseca-Wollheim F. Z., Kiln. Chem., Kiln. Biochem.1973;1 1 :421 ,426. Dokumentation Roche Diagnostics.
4. Hohorst HJ. Biochem Z. 1956;328:507.
5. Kaplan LA, Pesce Al Clinical Chemistry Theory, Analysis and Correlation. St. Louis, Mo: CV Mosby Co; 1984:1231.
6. Kirsten E, et at. Biochem Z. 1963;337:312.
7. Passing H, Bablok W. A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from Two Different Analytical Methods. J. Clin. Chem., Clin. Biochem. 1983; 21:709-720.
8. Prellwitz W, et al. Med Welt. 1976;27:1277.
9. Siegel JM, Montgomery GA. Arch Biochem/Biophys. 1956;82:288.
10. Tietz NW. Clinical Guide to Laboratory Tests. 3rd ed. Philadelphia, PA: W.B. Saunders Co; 1995:44.
11. Young, DS., Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, fifth edition 2000, AACC Press, Washington, D.C.