

ALA - DEHYDRASE

Determinazione colorimetrica
dell'attività dell'ALA – Deidraasi Eritrocitaria

50 test

REF CM03-50T

USO PREVISTO

Kit per la determinazione quantitativa *in vitro* dell'Ala-Deidraasi Eritrocitaria nel sangue.

PRINCIPIO DI REAZIONE

L'enzima ALA-deidraasi, estratto dagli eritrociti, catalizza la trasformazione del 5-aminolevulinato in porfobilinogeno. Il prodotto di reazione, che si forma in quantità direttamente proporzionale all'attività dell'enzima, viene rivelato mediante la reazione di Ehrlich e determinato quantitativamente per via fotometrica.

REAGENTI

Contenuto del kit

REF CM0350T

REAGENT 1 Soluzione emolizzante	1 x 50 ml
REAGENT 2/A Acido 5-aminolevulinico (polvere)	2 flaconi
REAGENT 2/B Tampone Fosfato	2 x 14 ml
*REAGENT 3 Acido tricloroacetico	1 x 80 ml
REAGENT 4/A p-Dimetilaminobenzaldeide (polvere)	1 flacone
*REAGENT 4/B Acido acetico	1 x 100 ml
*REAGENT 4/C Acido perclorico	1 x 20 ml

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

STABILITÀ: i reagenti sono stabili a 2-8°C fino alla data di scadenza riportata sulla confezione.

STRUMENTAZIONE NECESSARIA E NON FORNITA

Bagnomaria, centrifuga, spettrofotometro o fotometro a filtri (520-570nm).

PREPARAZIONE DEI REAGENTI DI LAVORO

REAGENTE 2 (2/A + 2/B)

Inserire il tappo frattura del Reagent 2/A sul flacone del Reagent 2/B; spingere a fondo ed agitare fino a completa solubilizzazione. STABILITÀ: 2 mesi a 2-8°C.

REAGENTE 4 (4/A + 4/B)

Sciogliere il contenuto del flacone di Reagent 4/A nel flacone di Reagent 4/B e agitare fino a completa solubilizzazione. STABILITÀ: 4 mesi a 2-8°C.

La soluzione va scongelata a temperatura ambiente o a bagnomaria (20-30°C) mantenendola al riparo dalla luce diretta.

REAGENTE DI EHRLICH (4/A + 4/B + 4/C)

Aggiungere 1.9 ml di Reagent 4/C a 10 ml di Reagent 4. Agitare fino ad ottenere una soluzione omogenea.

La soluzione così preparata è sufficiente per 5 determinazioni. Quantità maggiori possono essere preparate, se necessario, tenendo conto che ogni test necessita di 2 ml di questo reagente.

STABILITÀ: **6 ore a temperatura ambiente.**

CAMPIONE

Sangue eparinato.

Conservare il campione a 2-8°C ed effettuare l'analisi prima possibile.

STABILITÀ: conservare a 2-8°C. Dopo 24 ore a 2-8°C l'attività dell'enzima diminuisce di circa il 4-10%.

PROCEDIMENTO MANUALE

Lunghezza d'onda:	553 nm (520 – 570 nm)
Cammino ottico:	1 cm
Lettura:	contro bianco reagente
Temperatura:	37°C
Metodo:	colorimetrico end point
Linearità:	fino a 10 U/ml
Sensibilità:	0.2 U/ml
C.V.:	1%

Pipettare con cura in una provetta da centrifuga:

Campione	0.1 ml
Reagent 1	0.9 ml

Mescolare bene ed aggiungere:

Reagent 2	0.5 ml
-----------	--------

Mescolare accuratamente, quindi incubare per 1 ora a 37°C al riparo dalla luce. Togliere le provette dal bagnomaria e pipettare in ciascuna di esse:

Reagent 3	1.5 ml
-----------	--------

Mescolare e centrifugare per 5 minuti a 3000 rpm.

Pipettare in provette asciutte:

	Bianco reagente	Campione
Supernatante	---	1.5 ml
Acqua distillata	1.5 ml	---
Reagente di Ehrlich	1.5 ml	1.5 ml

Mescolare bene. Dopo 10 minuti esatti leggere l'assorbanza del campione (Ac) contro bianco reagente.

CALCOLO

Attività ALA-deidraasi (metodo standardizzato europeo):

Unità (ALA-D)/ml eritrociti = (Ac / Ematocrito %) x 3226

VALORI DI REFERIMENTO

Adulti > 20 U/ml

È opportuno che ciascun laboratorio determini i propri valori di riferimento.








OSSERVAZIONI

- L'attività dell'enzima è espressa in unità/ml (in accordo con il Metodo Standardizzato Europeo) corrispondente alle nanomoli di substrato trasformate per minuto e per ml di eritrociti.
- Taratura del fotometro:
sciogliere 0.5 g fenoltaleina in 100 ml alcool etilico assoluto, ed aggiungere 0.5 ml di questa soluzione a 100 ml tampone borato 0.01 mol/L pH 9.22.
Uno strumento ben tarato, dopo azzeramento con tampone borato in cuvetta da 1 cm di cammino ottico, deve leggere, a $\lambda = 555$ nm, un valore di assorbanza $A = 0.610$.
In caso contrario calcolare il seguente fattore di correzione k:
 $k = 0.610/A$ letta
Dove A letta è il valore di assorbanza realmente misurato.
In sede di calcolo, moltiplicare il risultato ottenuto in U/ml per tale fattore di correzione.

BIBLIOGRAFIA

- A. Berlin et K.H. Schaler, "Z. Klein. Chem. Klein. Biochem." 12, 389-390 (1974).

LEGENDA SIMBOLI

	dispositivo medico diagnostico in vitro
	numero di lotto
	numero di catalogo
	limite di temperatura
	usare entro la data
	attenzione
	consultare le istruzioni per l'uso

IVD

CE

Ed. 01 - Gen 2022

PRODUTTORE



FAR

Via Fermi, 12 - 37026 Pescantina - VERONA - ITALY

tel +39 045 6700870

sito web <http://www.farddiag.com>

e-mail: order@farddiag.com

e-mail: farddiag@farddiag.com