

# ALA - PBG

## Determinazione cromatografico – colorimetrica dell'Acido $\delta$ -Aminolevulinico e del Porfobilinogeno nelle urine

10 + 10 test

REF KR02-10

### USO PREVISTO

Kit per la determinazione quantitativa in vitro dell'Acido  $\delta$ -Aminolevulinico e del Porfobilinogeno nelle urine.

### PRINCIPIO DI REAZIONE

Le urine vengono fatte passare attraverso un sistema di due colonne. Sulla prima, contenente una resina anionica, rimangono adsorbiti il porfobilinogeno (PBG) ed altre sostanze interferenti.

Sulla seconda, contenente una resina cationica, si adsorbe l'acido  $\delta$ -aminolevulinico (ALA), che viene poi eluito e dosato quantitativamente mediante la reazione di Ehrlich. Dalla prima colonna si può eluire selettivamente il PBG e dosarlo quantitativamente mediante la reazione di Ehrlich.

### REAGENTI E COLONNE

Contenuto del kit:

<b>REAGENT 1</b> Sodio acetato	<b>REF KR02-10</b>	<b>1 x 60 mL</b>
<b>*REAGENT 2</b> Solvente		<b>1 x 1 mL</b>
<b>REAGENT 3/A</b> Agente cromogeno (polvere)		<b>1 flacone</b>
<b>*REAGENT 3/B</b> Acido acetico glaciale		<b>1 x 50 mL</b>
<b>*REAGENT 3/C</b> Acido perclorico		<b>1 x 10 mL</b>
<b>REAGENT 4 Standard</b> acido $\delta$ -aminolevulinico 0.2 g/L		<b>1 x 1 mL</b>
<b>REAGENT 5</b> Acido acetico 1M		<b>1 x 22 mL</b>
<b>COLUMN</b> Colonne cromatografiche per ALA + PBG		<b>10 + 10</b>

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

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

### STRUMENTAZIONE NECESSARIA E NON FORNITA

Bagnomaria 100°C

Spettrofotometro o fotometro a filtri a 553 nm (520 - 570 nm)

### PREPARAZIONE DEI REAGENTI DI LAVORO

#### REAGENTE 3 (3/A + 3/B)

Sciogliere il contenuto di un flacone di Reagent 3/A nel flacone di Reagent 3/B e agitare fino a completa solubilizzazione.

**STABILITÀ:** 6 mesi a 2-8°C.

#### REAGENTE DI EHRlich (3/C+3)

Aggiungere 1.9 mL di Reagent 3/C a 10 mL di Reagente 3 e agitare sino ad ottenere una soluzione omogenea.

La soluzione così preparata è sufficiente per 11 determinazioni.

Quantità maggiori possono essere preparate, se necessario, tenendo conto che ogni colonna necessita di 1 mL di questo reagente.

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

### CAMPIONE

Urine delle 24 ore: raccogliere le urine ed aggiungere acido cloridrico concentrato fino a che il relativo pH sia inferiore a 6.

Miscelare bene, misurarne il volume e conservare a 2-8°C.

**STABILITÀ:** l'acido  $\delta$ -aminolevulinico è stabile per almeno un mese, il PBG per almeno 24 ore, se conservati a 2-8°C e a pH<6.

### PROCEDIMENTO

Lunghezza d'onda:	553 nm (520 - 570 nm)
Cammino ottico:	1 cm
Lettura:	contro bianco reagente
Temperatura:	bagnomaria bollente
Linearità:	fino a 6 mg/100 mL
Sensibilità:	0.1 mg/100 mL
C.V. (intra-assay):	2%
C.V. (inter-assay):	3%

### PREPARAZIONE DELLE COLONNE

Per ciascun campione utilizzare una colonna ALA e una PBG.

Togliere il tappo superiore e quindi spezzare la lancetta di chiusura inferiore delle colonne. Lasciare defluire completamente il liquido.

Porre la colonna PBG sopra a quella ALA in modo che l'eluato della prima cada nella seconda.

Pipettare nella colonna superiore (PBG):

Acqua distillata	1.0 mL	scartare l'eluato
Urine	0.5 mL	scartare l'eluato
Acqua distillata	1.0 mL	scartare l'eluato

Togliere la colonna superiore, che verrà utilizzata per la determinazione del PBG, e conservarla al buio.

### DETERMINAZIONE ALA

Porre la colonna ALA sopra una provetta pulita e pipettare:

Acqua distillata	5.0 mL	Scartare l'eluato
Reagent 1	5.0 mL	raccogliere l'eluato ALA

Pipettare in 3 provette contraddistinte:

	Bianco reagente	Campione	Standard
Eluato ALA	---	2.0 mL	---
Reagent 4 standard	---	---	0.02 mL
Reagent 1	2.0 mL	---	1.98 mL
Reagent 2	0.04 mL	0.04 mL	0.04 mL

Agitare energicamente ed incubare le provette in bagnomaria bollente per 10 minuti. Raffreddare quindi in acqua corrente, mescolare bene e pipettare in 3 nuove provette.

Aliquota prelevata	1.0 mL	1.0 mL	1.0 mL
Reag. di Ehrlich	1.0 mL	1.0 mL	1.0 mL

Miscelare ed incubare a temperatura ambiente per 15 minuti. Leggere le assorbanze del campione (Ac) e dello standard (Ast) contro bianco reagente, preferibilmente entro 5-10 minuti. La colorazione che si sviluppa raggiunge la massima intensità dopo 15 minuti, ed è stabile per 15 minuti.

### DETERMINAZIONE PBG

Porre la colonna del PBG sopra una provetta pulita e pipettare:

Acqua distillata	5.0 mL	scartare l'eluato
Reagent 5	1.0 mL	raccogliere l'eluato

Attendere che il liquido sia defluito del tutto, quindi aggiungere:

Reagent 5	1.0 mL	raccogliere l'eluato
-----------	--------	----------------------

Si otterrà così al termine del processo un unico eluato PBG del volume di 2 mL. Mescolare bene e pipettare in 2 provette contraddistinte:

	Bianco reagente	Campione
Eluato PBG	---	1.0 mL
Acqua distillata	1.0 mL	---
Reag.di Ehrlich	1.0 mL	1.0 mL

Miscelare bene ed incubare a temperatura ambiente per 10 min. Leggere l'assorbanza del campione (Ac) contro bianco reagente, preferibilmente entro 5-10 minuti.

La colorazione che si sviluppa raggiunge la massima intensità dopo 10 minuti ed è stabile per 15 minuti.

### CALCOLO

Acido  $\delta$ -aminolevulinico (ALA) mg/100 mL = (Ac/Ast) x 2  
mg ALA/100 mL x 10 x L di urine 24 ore = mg ALA/24 ore  
Porfobilinogeno (PBG) mg/100 mL = A campione x 2.92  
mg PBG/100 mL x 10 x L di urine 24 ore = mg PBG/24 ore

### VALORI DI RIFERIMENTO

Acido  $\delta$ -aminolevulinico: fino a 0.60 mg/100 mL

Porfobilinogeno: fino a 0.15 mg/100 mL

Indicazione del grado di intossicazione da piombo:

ALA (mg/100 mL)	Entità dell'intossicazione
< 0.60	assente
0.60 - 1.50	moderata
1.50 - 3.00	severa
3.00 - 6.00	grave
> 6.00	gravissima

### OSSERVAZIONI

Confrontando il kit FAR (y) per la determinazione dell'ALA-PBG rispetto ad un metodo diretto si è ottenuto un coefficiente di correlazione pari a 0.98.

### SMALTIMENTO

Il prodotto deve essere utilizzato all'interno di analisi professionali.

Il prodotto va smaltito in conformità alla regolamentazione nazionale e/o internazionale.

### BIBLIOGRAFIA

J.R. Davis et S.L. Andelman "Arch. Environ Health" 15,53-59 (1967).

### 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



Edizione 02 - Feb 2024



FAR srl

Via Fermi, 12 - 37026 Pescantina - VERONA - ITALY

Tel. +39 045 6700870

sito web: <http://www.farddiag.com> e-mail: [farddiag@farddiag.com](mailto:farddiag@farddiag.com)