



## Kyselina 5 – aminolevulová (ALA) / Porfobilinogén(PBG)

Kód 11017      40 testov	<b>Kyselina 5 - aminolevulová (ALA) / porfobilinogén (PBG)</b>  <b>Chromatografia – spektrofotometria</b>
Skladovanie pri 2 - 30°C	
Reagencie na stanovenie koncentrácie kyseliny 5-aminolevulovej a porfobilinogénu. Výhradne pre profesionálnu in vitro diagnostiku.	

### PRINCÍP METÓDY

Vzorka prechádza postupne dvomi chromatografickými kolónami. Prvá z nich obsahuje anex, ktorý zachytí porfobilinogén (PBG), druhá kolóna obsahuje katex a zachytí kyselinu 5 – aminolevulovú (ALA). Potom nasleduje premytie, pri ktorom sa odstránia interferujúce častice a zachytia sa obidva analyty. Kvantifikácia sa uskutočňuje spektrofotometricky pri 555nm prostredníctvom Ehrlichovej reakcie.<sup>1,2</sup>

### OBSAH A ZLOŽENIE

- Reagencia.** 2 x 350 mL. Octan sodný 1 mol/L.
- Reagencia.** 1X175 ml. Kyselina octová 1 mol/L.
- PBG mikrokolóny.** 2 x 20. Obsahujú navážené množstvo pufovaného anexu- živice.
- ALA mikrokolóny.** 2 x 20. Obsahujú navážené množstvo pufovaného katexu- živice.
- A. Reagencia.** 1 x 17 mL. Acetylaceton.  
Varovanie : H226: Horľavá kvapalina a výpary.  
H302: Škodlivý pri požití. H311 Toxický pri kontakte s kožou. H331 Toxický pri inhalácii. P280: Noste ochranné okuliare/ ochranný plášť, ochranný štít na tvár P331: Po požití nevyvolávajte zvracanie. P420: Skladujte oddelene od ostatných materiálov.
- B1. Reagencia.** 2 x 50 mL. 4-Dimetylaminobenzaldehyd 6 mmol/L, po rekonštitúcii.
- B2. Reagencia.** 2 x 50 mL. Kyselina octová 18 mol/L.  
Varovanie: H226: Horľavá kvapalina a výpary.  
H314: Spôsobuje ťažké popáleniny kože a poškodenie očí. P303+P361+P353: V prípade zasiahnutia kože (alebo vlasov) ihneď odstráňte kontaminovaný odev. Omyte postihnuté miesto vodou /sprchou. P420: Skladujte oddelene od ostatných materiálov.
- S. ALA Štandard.** 2 ml x 5 mL. ALA 20,0 mg/ dl (1526 µmol/ l) po rekonštitúcii. Primárny štandard.

Ďalšie varovania a upozornenia – viď bezpečnostný list.

### SKLADOVANIE

Skladujte pri 2 – 30°C. (Poznámka1)  
Reagencie a štandard sú stabilné do dátumu uvedeného na štítku v prípade, že sú skladované uzatvorené a je zabránené kontaminácii v priebehu používania.

### Príznaky zhoršenia kvality :

- Reagencie : Prítomnosť zrazeniny, zákalu , absorbanca reagencie blank je nad 0,120 (ALA) a 0,08 (PBG) pri 555nm (1cm kyveta)
- Mikrokolóny (3 a 4) : neprítomnosť pufru nad krycím diskom živice.

### VAROVANIE A BEZPEČNOSTNÉ OPATRENIA

Dodržiavajte bežné preventívne opatrenia potrebné na zaobchádzanie so všetkými laboratórnymi činidlami. Bezpečnostný list je pre profesionálnych užívateľov na požiadanie k dispozícii. Likvidácia všetkého odpadu by mala byť v súlade s miestnymi predpismi. Akúkoľvek vážnu udalosť, ktorá by sa mohla vyskytnúť

v súvislosti so súpravou, nahláste BioSystems S.A.

### PRÍDAVNÉ REAGENCIE

- kyselina perchlorová 70% p.a.

### PRÍPRAVA REAGENCIÍ

**Reagencia B :** Preneste obsah fľaštičky B2 do B1 a miešajte do úplného rozpustenia. Stabilita – 6 mesiacov pri 2 – 8°C. (Poznámka1)

**Štandard (S):** Rozpusťte v 5 ml destilovanej vody. Stabilita : 12 mesiacov pri 2 – 8°C. Pre dlhšie skladovanie zamrazte zriadené v alikvotných podieloch. Zamraziť iba raz.

**Ehrlichovo činidlo :** pridajte 1,9 ml kyseliny perchlorovej (70%) do 10ml reagencie B a pretrepávajte do dosiahnutia homogénnej zmesi. Stabilita – 7 hodín pri izbovej teplote 15 – 30°C. Väčší objem pripravte v rovnakom pomere.

### PRÍDAVNÉ ZARIADENIA

- Spektrofotometer alebo fotometer s filtrom 555nm (520-570).
- Termostatický vodný kúpeľ
- Kyveta 1cm.

### VZORKY

Moč. 24 hodinové vzorky odobrané štandardným spôsobom. Upravte pH vzorky na 6 pomocou HCl. Chráňte pred svetlom. ALA je stabilná 1 mesiac a PBG maximum 24 hodín pri 2-8°C. Ak sa skladuje vzorka pri – 20°C, je PBG je stabilný 1 mesiac . Pred testovaním vzorku centrifugujte alebo filtrujte.

### POSTUP

#### Príprava vzorky

#### Chromatografická separácia

- Na každú vzorku použite jednu ALA (4) a jednu PBG (3) kolónu. Najprv odstráňte horný uzáver kolóny , potom uzáver v jej spodnej časti. Pomocou okrúhleho konca pipety zatlačte horný filter smerom dole k povrchu živice tak, aby ste ju príliš nestlačili. Všetku kvapalinu nechajte volne vytiecť von.
- Umiestnite PBG kolónu nad ALA kolónu.
- Do vrchnej kolóny (PBG) pipetujte :

Destilovaná voda	10,0 ml	nechajte volne vytiecť von
Vzorka	1,0 ml	nechajte volne vytiecť von
Destilovaná voda	20,0 ml	nechajte volne vytiecť von

- Odložte vrchnú kolónu (PBG) do tmy , aby ste mohli neskôr PBG kvantifikovať.

#### ALA stanovenie

- Pod ALA kolónu umiestnite skúmavku a pipetujte:

Reagencia (1)	10,0 ml	Zachyťte eluát
---------------	---------	----------------

- Eluát riadne premiešajte a pipetujte :



## Kyselina 5 – aminolevulová (ALA) / Porfobilinogén(PBG)

Kód 11017	40 testov	<b>Kyselina 5 - aminolevulová (ALA) / porfobilinogén (PBG)</b>  Chromatografia – spektrofotometria
Skladovanie pri 2 - 30°C		
Reagencie na stanovenie koncentrácie kyseliny 5-aminolevulovej a porfobilinogénu. Výhradne pre profesionálnu in vitro diagnostiku.		

	blank	štandard	vzorka
	-	-	Eluát
ALA štandard (S)	-	0,1 ml	-
Reagencia (1)	10,0 ml	9,9 ml	-
Reagencia (A)	0,2 ml	0,2 ml	0,2 ml

7. Riadne premiešajte a vložte do vriaceho kúpeľa na 10 minút.

8. Skúmavku vychladte pod tečúcou vodou, riadne premiešajte a pipetujte do označenej testovacej skúmavky :

Inkubovaná zmes	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml
Ehrlichovo činidlo	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml

9. Riadne premiešajte, nechajte stáť 15 minút pri 15 – 30°C a odčítajte absorbciu (A) vzorky a štandardu pri 555nm oproti blanku. Absorbancia je stabilná 30 minút.

**Stanovenie PBG** (tento test je orientačný)

10. Pod kolónu PBG umiestnite skúmavku a pipetujte :

Reagencia (2)	4,0 ml	Zachyťte eluát
---------------	--------	----------------

11. Riadne premiešajte a pipetujte do označenej testovacej skúmavky :

	Blank	vzorka
Eluát	-	1,0 ml
Destilovaná voda	1,0 ml	-
Ehrlichov reagent	1,0 ml	1,0 ml

12. Riadne premiešajte, nechajte stáť 10 minút pri 15 – 30°C a odčítajte absorbciu (A) vzorky oproti blanku pri 555nm. Absorbancia je stabilná 30 minút.

### VÝPOČET

**Koncentrácia ALA** vo vzorke sa vypočíta :

$$\frac{A_{\text{Sample}}}{\epsilon \times l} \times \frac{V_E}{V_S} \times \frac{V_T}{V_{EC}} \times \frac{1}{\text{Rec}} = C_{\text{Sample}}$$

Objem vzorky ( $V_S$ ) je 1ml, objem eluátu ( $V_E$ ) je 10ml, objem eluátu pri kolorimetrii ( $V_{EC}$ ) je 10 ml, objem štandardu pri kolorimetrii ( $V_{SIC}$ ) je 0,1ml, koncentrácia štandardu ( $C_{st}$ ) je 20,0 mg/dl alebo 1526  $\mu\text{mol/l}$  a priemerná výťažnosť ( $R_{EC}$ ) je 0,81.

Následujúci vzorec slúži pre výpočet koncentrácie :

$$\frac{A_{\text{Sample}}}{A_{\text{Standard}}} \left| \begin{array}{l} \times 2.46 = \text{mg/dL ALA} \\ \times 188 = \mu\text{mol/L ALA} \end{array} \right.$$

Množstvo ALA v 24 hodinovej vzorke moči sa vypočíta :

mg/dl	$\times 10 \times V_{\text{moč/24 hodín}} (L) =$	mg/24 hodín
$\mu\text{mol/l}$	$\times V_{\text{moč/24 hodín}} (L) =$	$\mu\text{mol} / 24 \text{ hodín}$

**Koncentrácia PBG** vo vzorke sa vypočíta :

$$\frac{A_{\text{vzorky}}}{\epsilon \times l} \times \frac{V_E}{V_S} \times \frac{V_T}{V_{EC}} \times \frac{1}{R_{EC}} = C_{\text{vzorky}}$$

Molárna absorbcia ( $\epsilon$ ) produktu Ehrlichovej reakcie pri 555nm je 0,062 L.  $\mu\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ , (l) kyveta je 1 cm, objem vzorky ( $V_S$ ) je 1 ml, objem eluátu ( $V_E$ ) je 4 ml, celkový reakčný objem ( $V_T$ ) je 2 ml, objem eluátu v kolorimetrii ( $V_{EC}$ ) je 1ml a priemerná výťažnosť ( $R_{EC}$ ) je 0,86. Keď 1  $\mu\text{mol}$  PBG je 0,226 mg PBG a 1 l je 10dl, následujúci vzorec slúži pre výpočet koncentrácie :

$$A_{\text{vzorky}} \left| \begin{array}{l} \times 3,39 = \text{mg/dl PBG} \\ \times 150 = \mu\text{mol/l PBG} \end{array} \right.$$

Množstvo PBG v 24 hodinovom moči sa vypočíta podľa vzorca :

mg/dl	$\times 10 \times V_{\text{moč/24 hod}} (L) =$	mg/24 hod
$\mu\text{mol/l}$	$\times V_{\text{moč/24 hod}} (L) =$	$\mu\text{mol/24 hod}$

### REFERENČNÉ HODNOTY

Moč<sup>3</sup> : ALA : 1,5 – 7,5 mg/24 h = 11,4 – 57,2  $\mu\text{mol/24 h}$ .  
 Moč<sup>4</sup> : PBG : 0 – 3,4 mg/24 h = 0 – 15  $\mu\text{mol/24 h}$ .  
 Tieto hodnoty sú iba orientačné. Každé laboratórium by si malo stanoviť svoje vlastné, normálne rozmedzie.

### KONTROLA KVALITY

Pre overenie správnosti merania sa odporúča použiť Kontrolný moč ( kód 18036 a 18037). Každé laboratórium by si malo stanoviť svoju vlastnú vnútornú kontrolu kvality a postupy pre



## Kyselina 5 – aminolevulová (ALA) / Porfobilinogén(PBG)

Kód 11017      40 testov	<b>Kyselina 5 - aminolevulová (ALA) / porfobilinogén (PBG)</b>
Skladovanie pri 2 - 30°C	
Reagencie na stanovenie koncentrácie kyseliny 5-aminolevulovej a porfobilinogénu. Výhradne pre profesionálnu in vitro diagnostiku.	
<b>Chromatografia – spektrofotometria</b>	

nápravu pre prípad, že kontroly nie sú v tolerančnom rozpätí.

### METROLOGICKÁ CHARAKTERISTIKA

#### Stanovenie ALA

- detekčný limit : 0,03mg/l = 2,5 µmol/l
- linearita : 6,03mg/l = 460 µmol/l
- opakovateľnosť ( jednej vzorky ) :

Priemerná koncentrácia	CV	n
0,41mg/l = 31 µmol/l	4,2%	25
2,65mg/l = 202 µmol/l	2,2%	25

- reprodukovateľnosť ( run to run ) :

Priemerná koncentrácia	CV	n
0,41mg/l = 31 µmol/l	5,9%	25
2,65mg/l = 202 µmol/l	3,7%	25

- citlivosť : 20,6 mA.L/mg = 2,7 mA.L/µmol
- správnosť : výsledky získané touto súpravou pri porovnaní s teoretickými hodnotami nevykazovali systematické rozdiely. Podrobnosti o porovnávačej skúške sú k dispozícii na vyžiadanie .
- interferencie : Interferovať môžu niektoré zložky potravín, lieky a ďalšie látky<sup>5</sup>.

### METROLOGICKÁ CHARAKTERISTIKA

#### Stanovenie PBG

- detekčný limit : 0,02mg/l = 0,7 µmol/l
- linearita : 4,64mg/l = 205 µmol/l
- opakovateľnosť ( jednej vzorky ) :

Priemerná koncentrácia	CV	n
0,09mg/l = 3,9 µmol/l	7,5%	25
1,99mg/l = 88 µmol/l	4,2%	25

- reprodukovateľnosť ( run to run ) :

Priemerná koncentrácia	CV	n
0,09mg/l = 3,9 µmol/l	12,4%	25
1,99mg/l = 88 µmol/l	4,7%	25

- správnosť : výsledky získané touto súpravou pri porovnaní s teoretickými hodnotami nevykazovali systematické rozdiely. Podrobnosti o porovnávačej skúške sú k dispozícii na vyžiadanie .
- interferencie : Interferovať môžu niektoré zložky potravín, lieky a ďalšie látky<sup>5</sup>.

### DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

Porfýria je genetická abnormalita v regulácii syntézy hemu, pri ktorej sa vyskytujú zvýšené hladiny prekurzorov hemu, ako je kyselina 5- aminolevulová a porfobilinogén v moči. Pri otravách olovom koncentrácia ALA v moči vzrastá, pretože olovo blokuje ALA metabolickú cestu. Otrava olovom a porfýria môžu byť rozlíšené kvantifikáciou ALA a PBG.<sup>4,6</sup> Klinická diagnóza nemôže byť stanovená na základe výsledkov jedného testu, ale je potrebné vziať v úvahu jak klinické, tak laboratórne údaje.

### POZNÁMKA

1.Komponenty B2 a B môžu kryštalizovať ak sú skladované pri teplote 2 - 8°C . Pred použitím ich vytemperujte, aby ste získali homogénny roztok.

### POZNÁMKA distribútora

1. Dlhodobé uskladnenie koloniek vedie k stlačeniu živice a tým i ku spomaleniu ich prietoku. Pre obnovu ich funkcie obráťte kolónu pred stanovením na 10 minút tak, aby sa živica presypala. Potom kolónu umiestnite do pracovnej polohy a živicu nechejte usadiť. Kolóna je pripravená k použitiu.

### LITERATÚRA

1. Davis JR, Andelman SL. Urinary Delta-Aminolevulinic Acid (ALA) Levels in Lead Poisoning. Arch Environ Health 1967; 15:53-59.
2. Mauzerall, D., and Granick, S.: The occurrence and determination of δ-aminolevulinic acid and porphobilinogen in urine, J. Biol. Chem.1956, 219: 435-446.
3. Jacques W, Clinical Interpretation of the laboratory tests. 4<sup>a</sup> ed. Masson.2002.
4. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE,WB Saunders Co,2005.
5. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5<sup>th</sup> ed. AACC Press, 2000.
6. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4rd ed. AACC Press, 2001.

### UPOZORNENIE

Slovenský preklad k 9.3.2022.  
Vzhľadom k novej inovácie výrobku sa odporúča prekontrolovať slovenský preklad s originálnym príbalovým letákom tak, že sa porovnajú identifikačné čísla uvedené v



## Kyselina 5 – aminolevulová (ALA) / Porfobilinogén(PBG)

Kód 11017      40 testov	<b>Kyselina 5 - aminolevulová (ALA) / porfobilinogén (PBG)</b>
Skladovanie pri 2 - 30°C	
Reagencie na stanovenie koncentrácie kyseliny 5-aminolevulovej a porfobilinogénu. Výhradne pre profesionálnu in vitro diagnostiku.	
	Chromatografia – spektrofotometria

zápätí. Originálny návod nájdete v súprave a na internetovej  
adrese [www.biosystems.es](http://www.biosystems.es).

Slovenský návod je k dispozícii na [www.jktrading.cz](http://www.jktrading.cz)

### Výhradný distribútor:

**ČR** : JK-Trading spol.s.r.o., Křivatcová 421/5, 150 21 Praha 5,  
tel.: +420 257 220 760

**SK** : JK-Trading spol.s.r.o., Dlhá 43, 900 31, Stupava  
tel.: + 421 264 774 591

V prípade mimoriadnych udalostí:

**ČR** : Toxikologické informační středisko (TIS), klinika  
pracovního lékařství VFN a LF UK, tel.: +420 224 91 92 93 a  
+420 224 91 54 02

**SK** : Toxikologické informačné centrum Bratislava, 833 05,  
Limbová 5, tel.: +421 254 774 166