

$$C = \frac{E_{DB} - E_{CA}}{E_{EB} - E_{DB}} \times 6 ,$$

где: C – концентрация АЛК в опытной пробе, мг/л;  
6 – концентрация АЛК в калибровочном растворе, с учетом разведения, мг/л.

#### УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

Набор следует хранить в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2–25° С в течение всего срока годности.

Срок годности – 2 года.

Для качественного определения АЛК реактив Эрлиха устойчив при хранении в плотно закупоренном виде при температуре +2–8° С не более 3 суток. Для количественного определения использовать свежеприготовленный реактив Эрлиха.

Буфер, Метилацетоацетат и Экстрагент после вскрытия флаконов могут храниться в закупоренном виде при температуре +2–25 °С в течение 1 года, но не более срока годности набора.

Калибратор после вскрытия флакона может храниться в плотно закупоренном виде при температуре +2–8° С в течение 1 года, но не более срока годности набора.

**По вопросам, касающимся приобретения наборов и их качества, просим обращаться по адресу: 105173, г. Москва, ул. Западная, д. 2, стр. 1, ООО «Агат-Мед». Телефон для справок: (495) 777-41-92.**



105173, Москва, ул. Западная,  
д. 2, стр. 1, ООО «Агат-Мед».  
Тел.: (495) 777-41-92.  
Факс: (495) 741-25-19.  
www.agat.ru agat@agat.ru

## АЛК АГАТ

### ИНСТРУКЦИЯ

#### по применению набора реагентов для определения 5-аминолевулиновой кислоты в моче

#### НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для качественного и количественного определения 5-аминолевулиновой кислоты (АЛК) в моче в клиничко-диагностических и биохимических лабораториях.

АЛК является важным диагностическим маркером отравления свинцом. Кроме того, значительное повышение уровня АЛК в моче может наблюдаться при патологических процессах, связанных с нарушением порфиринового обмена (порфириях).

Набор рассчитан на проведение 100 качественных или 15 количественных определений.

#### ПРИНЦИП МЕТОДА

АЛК реагирует с метилацетоацетатом при нагревании с образованием пиролла, который селективно экстрагируется этилацетатом. При взаимодействии пиролла в сильноокислой среде с п-диметиламинобензальдегидом (реактив Эрлиха) образуется окрашенное в красный цвет соединение, интенсивность окраски которого пропорциональна концентрации АЛК и измеряется фотометрически при длине волны 553 нм (540–560 нм).

#### СОСТАВ НАБОРА

1. **п-Диметиламинобензальдегид** (2 г) – 1 флакон;
2. **Смесь кислот** (уксусная кислота, 14 моль/л, хлорная кислота 0,92 моль/л) – 1 флакон (100 мл);
3. **Буфер** (ацетат натрия-уксусная кислота 2,0 моль/л, рН 4,6) – 1 флакон (50 мл);
4. **Метилацетоацетат** – 1 флакон (10 мл);
5. **Экстрагент** (этилацетат) – 2 флакона (по 75 мл);
6. **Калибровочный раствор АЛК**, 30 мг/л – 1 флакон (5 мл).

#### АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Чувствительность определения не более 2 мг/л.

#### МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При работе с данным набором необходимо соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического

режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (М., 1981г.).

Операцию инкубации пробирок с образцами в кипящей водяной бане следует проводить в вытяжном шкафу.

Реактив Эрлиха содержит уксусную и хлорную кислоты – едкие вещества. В случае попадания раствора на кожу и слизистые необходимо сразу же промыть пораженное место большим количеством проточной воды. Пипетирование *per os* категорически запрещается. При попадании внутрь следует немедленно выпить 0,5 л теплой воды и вызвать рвоту.

#### ОБОРУДОВАНИЕ

- Спектрофотометр, длина волны 553 нм, или фотоэлектроколориметр, длина волны 540–560 нм, кювета с толщиной поглощающего свет слоя 10 мм;
- водяная баня, обеспечивающая температуру  $+100\pm 1^\circ\text{C}$ ;
- центрифуга лабораторная на 3000 об/мин;
- секундомер;
- вода дистиллированная;
- пипетки, позволяющие отбирать соответствующие объемы жидкости;
- шейкер;
- пробирки центрифужные вместимостью 5–10 мл.

#### ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

Раствор бриллиантового крезилового синего готов к применению.

#### ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

##### 1. Качественное определение АЛК.

Компоненты реакционной смеси внести в пробирки в количествах, указанных в таблице 1.

Таблица 1.

Отмерить, мл	Опытная проба	Калибровочная проба	Контрольная (холостая) проба
Моча	0,5	-	-
Калибровочный раствор АЛК	-	0,1	-
Вода дистиллированная	-	0,5	0,5
Буфер	0,5	0,5	0,5
Метилацетоацетат	0,1	0,1	0,1

Содержимое пробирок тщательно перемешать, пробирки закрыть колпачками из алюминиевой фольги и поместить точно на 10 минут в кипящую водяную баню. Затем пробирки быстро охладить в потоке холодной воды. В каждую пробирку прилить по 1,5 мл экстрагента (этилацетата). Пробирки плотно закупорить и перемешать на шейкере в течение не менее 30 сек. или встряхнуть вручную 50 раз.

Затем каждую пробирку центрифугировать 5 минут при 3000 об/мин (1800 g). Отобрать 1,0 мл экстракта (верхнего слоя) и перенести в чистую пробирку. Прибавить 1,0 мл реактива Эрлиха и тщательно перемешать.

Реакцию на АЛК следует считать положительной, если через 10 минут после добавления реактива Эрлиха произошло изменение окраски (розовое или красное окрашивание) по сравнению с холостой (желто-бурая окраска) и калибровочной пробами. Калибровочная проба, с учетом разведения, соответствует 6 мг/л АЛК.

В случае положительной реакции рекомендуется провести количественное определение АЛК.

##### 2. Количественное определение АЛК.

Компоненты реакционной смеси внести в пробирки в количествах, указанных в таблице 2.

Таблица 2.

Отмерить, мл	A	B	C	D	E
Моча	-	-	0,5	0,5	0,5
Калибровочный раствор АЛК	-	-	-	-	0,1
Вода дистиллированная	1,0	1,0	0,5	0,5	0,5
Буфер	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Метилацетоацетат	-	0,2	-	0,2	0,2

Содержимое пробирок тщательно перемешать, пробирки закрыть колпачками из алюминиевой фольги и поместить точно на 10 минут в кипящую водяную баню. Затем пробирки быстро охладить в потоке холодной воды. В каждую пробирку прилить по 3,0 мл экстрагента (этилацетата). Пробирки плотно закупорить и перемешать на шейкере в течение не менее 30 сек. или встряхнуть вручную 50 раз.

Затем каждую пробирку центрифугировать 5 мин при 3000 об/мин (1800g). Отобрать 2,0 мл экстракта (верхнего слоя) и перенести в чистую пробирку. Прибавить 2,0 мл реактива Эрлиха, содержимое пробирок тщательно перемешать и инкубировать при комнатной температуре ( $+18-25^\circ\text{C}$ ) в течение 10 минут.

Измерить величины оптических плотностей:

– пробы С против пробы А – ( $E_{CA}$ );

– пробы D против пробы В – ( $E_{DB}$ );

– пробы E против пробы В – ( $E_{EB}$ ).

при 553 (540–560) нм в кювете с толщиной поглощающего свет слоя 10 мм. Окраска устойчива в течение 1 часа.

Концентрацию АЛК рассчитать по формуле (1):