

INDICANO URINARIO IN FLUORIMETRIA – FAST - Codice Z60110

BIOCHIMICA

L'Indicano, o 3-indossilsolfato di potassio, è una molecola aromatica derivante dal metabolismo dell'amminoacido triptofano. Quest'ultimo è normalmente assunto con la dieta e viene convertito in indolo dai batteri presenti nell'intestino tenue, così da poter essere assorbito nel circolo sanguigno. Successivamente enzimi epatici lo idrossilano, in modo da permetterne la coniugazione con lo ione solfato ed infine l'escrezione nelle urine sotto forma di Indicano.

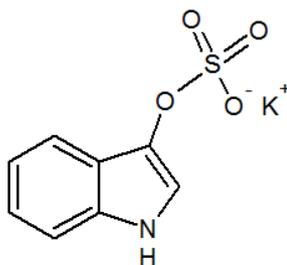


Fig.1 Indicano

Dal momento che l'intestino tenue è scarsamente popolato da quei microorganismi che costituiscono il microbiota umano, i livelli di indicano urinario sono solitamente bassi in individui clinicamente sani, ovvero in coloro i quali si trovano in una condizione di equilibrio detta eubiosi. Nel caso in cui vi sia, invece, uno squilibrio tra i microorganismi, di solito dovuto al proliferare di certi ceppi batterici a scapito di altri, si crea una condizione detta disbiosi. Quando questa condizione interessa l'intestino tenue si parla di disbiosi fermentativa, mentre se è a carico del colon si definisce disbiosi putrefattiva, caratterizzata da un aumento nelle urine di un altro marker, lo skatolo. In generale, i sintomi della disbiosi possono essere molteplici: cattiva digestione, gonfiore, alitosi, aumentata suscettibilità alle infezioni, ma anche nervosismo, ansia, disturbi del sonno e stanchezza.

I valori di Indicano presente nelle urine possono subire delle variazioni anche in alcune condizioni differenti dalla disbiosi fermentativa. In particolare aumentano in caso di steatorrea dovuta ad insufficienza pancreatica trattata con estratto di enzimi pancreatici, alterata digestione proteica postprandiale e malattia di Hartnup, una malattia genetica rara caratterizzata da un malassorbimento intestinale e renale di alcuni amminoacidi. Alti livelli di questo analita, inoltre, sono correlati con una rapida progressione della malattia renale cronica in pazienti uremici non dializzati. L'assunzione di antibiotici per via orale, invece, può far diminuire l'Indicano urinario.

In caso di positività al test, i risultati dovrebbero sempre essere seguiti da un'attenta anamnesi sulla storia clinica della paziente e da test aggiuntivi per la valutazione dell'eziologia della sintomatologia. Si consiglia di ripetere il test dopo 2/3 mesi, dopo aver seguito un trattamento a base di integratori ed un corretto regime alimentare.

EUREKA srl – LAB DIVISION
VAT N° 01547310423
E-mail: info@eurekaone.com
www.eurekaone.com



Head Quarter:
Via Enrico Fermi 25
60033 Chiaravalle (AN) ITALY
Tel. +39 071 7450790
Fax + 39 071 7496579



Questo prodotto adempie a tutte le esigenze della Direttiva 98/79/CE sui dispositivi medico-diagnostici in vitro (IVD). La dichiarazione di conformità CE è disponibile su richiesta.

Release N° 001	Indicano urinario in Fluorimetria	Febbraio 2019
----------------	-----------------------------------	---------------

CARATTERISTICHE DEL KIT

Principio del Metodo:

L'Indicano viene analizzato trattando l'urina con un opportuno diluente; la soluzione ottenuta viene direttamente iniettata in HPLC.

Recupero del Metodo :

n.a.

Sensibilità del Metodo (LLOD) :

0,17 mg/l

Minima Concentrazione analizzabile (LLOQ):

0,5 mg/l

Linearità :

0,5 – 400 mg/l

Accuratezza intra serie (errore relativo %) :

Ci	Cs
10 mg/l	60 mg/l
3,12%	2,33%

Accuratezza inter serie (errore relativo %) :

Ci	Cs
10 mg/l	60 mg/l
6,05%	1,98%

Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %) :

C LLOQ	Cm	Cs
0,5 mg/l	30 mg/l	100 mg/l
2,31%	2,85%	0,85%

Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %) :

C LLOQ	Cm	Cs
0,5 mg/l	30 mg/l	100 mg/l
4,77%	4,98%	2,99%

Coefficiente di correlazione + Dev Std :

0,9981 ± 0,0003

Valori di riferimento:

10 – 20 mg/l disbiosi lieve
20 – 40 mg/l disbiosi media
> 40 mg/l disbiosi grave

Contenuto della confezione :

Tutti i reagenti sono pronti all'uso e stabili 3 anni a 2–8 °C.

Reagente A – Soluzione Diluente + Standard Interno, **1 x 100 ml**

Reagente B – Soluzione Test, **1 x 2 ml**

Vedi Avvertenze

Calibratore liofilo, **5 x 1 ml**

Codice Z60116

Confezionato a parte – vedi scheda tecnica

Reagente M – Fase mobile, **2 x 500 ml**

<u>Dotazione strumentale minima richiesta :</u>	Strumento HPLC isocratico con loop da 10 μ l. Detector fluorimetrico $\lambda_{EX}=280$ nm $\lambda_{EM}=394$ nm Registratore di cromatogrammi
<u>Dotazione opzionale :</u>	Autocampionatore. Computer gestionale
<u>Modalità per il prelievo urinario :</u>	Raccolta urine della prima mattina

PROCEDURA PREANALITICA

Preparazione della Soluzione Test:

In una vial pipettare :

- 1000 µl di **Reagente A** – Soluzione Diluente + Standard Interno
- 20 µl di **Reagente B** - Soluzione Test

Al vortex per 5 secondi

INIEZIONE :

- Iniettare 5 µl della soluzione nel cromatografo HPLC ed attendere la stampa del cromatogramma.

Verificare che la Sol. Test abbia un tempo di ritenzione simile a quello riportato in fig. 2. Se il Test ha dato esito positivo si può procedere alla seduta analitica. Se così non fosse verificare la funzionalità del sistema analitico. **Importante** : Questa Soluzione così ottenuta non deve essere usata come calibratore

PROCEDURA ANALITICA

FASE 1 : Dispensare in una vial

	Calibratore	Campione	Controlli
Reagente A – Sol. Diluente + IS	1000 µl	1000 µl	1000 µl
Calibratore	20 µl		
Campione		20 µl	
Controlli			20 µl

Al vortex per 5 secondi

N.B.: il campione così preparato è stabile 1 giorno a 2-8 °C

INIEZIONE :

- Iniettare 5 µl della soluzione nel cromatografo HPLC ed attendere la stampa del cromatogramma

INDICANO URINARIO - Avvertenze

REAGENTE B : SOLUZIONE TEST

INDICANO	100 mg/l
----------	----------

PARAMETRI DEL DETECTOR FLUORIMETRICO

λ_{EX}	280 nm
λ_{EM}	394 nm
GAIN	1 x 10
TEMPO DI INTEGRAZIONE	5 secondi

PROTEZIONE DELLA COLONNA ANALITICA

Per salvaguardare il sistema completo POROSHELL 120 EC-C18 (50 x 4,6 mm, 2,7 μ) è tassativo l'uso del Prefiltri Javelin (1 x 10 pz), cod. S90199511.

CONDIZIONAMENTO DELLA COLONNA

Installare la colonna analitica nuova POROSHELL 120 EC-C18 (50 x 4,6 mm, 2,7 μ).
Disconnettere il detector Fluorimetrico e far passare 30 ml di una soluzione di **H₂O : Acetonitrile (20 : 80 v / v) a pH acidulo (<3)** e successivamente 30 ml di una soluzione di **H₂O : Acetonitrile (80 : 20 v / v)** al flusso di 1,5 ml/minuto. **Non riciclare i liquidi di lavaggio.**
Condizionare la colonna con la fase mobile al flusso di 1 ml/minuto e scaricare i primi 15 ml.
Condizionare ulteriormente la colonna per 15 minuti anche a ricircolo di fase. Al termine, iniettare il test chimico e verificare la congruità della separazione. Il segnale che la fase mobile deve essere cambiata è dato dal significativo innalzamento del rumore di fondo del detector Fluorimetrico. **NON è possibile effettuare analisi a ricircolo di fase.**
Se la T Amb del Laboratorio è > 20 °C si consiglia di conservare a 2-8 °C la Fase Mobile fra una seduta analitica e l'altra.

PULIZIA DELLA COLONNA

Disconnettere il detector. Flussare 30 ml di **H₂O : Acetonitrile (80 : 20 v / v)** e scaricare. Flussare una soluzione di **H₂O : Acetonitrile (30 : 70 v / v)** per 30 minuti scaricandola. **Si raccomanda di eseguire il lavaggio della Colonna Analitica alla fine di ogni seduta analitica.** La colonna va stoccata in una soluzione di **H₂O : Acetonitrile (30 : 70 v / v)**

LAVAGGIO AGO INIEZIONE

Lavare con una soluzione di Acqua / Etanolo o Metanolo o Acetonitrile (80 : 20 v/v).

PARAMETRI HPLC

LOOP	10 μ l
Flusso di lavoro consigliato	1 ml/minuto
Pressione corrispondente	Circa 100 bar

ACCESSORI E CONSUMABILI

CODICE	DESCRIZIONE	CONFEZIONE
Z60116	Calibratore liofilo per Indicano urinario	4 x 1 ml
Z60117	Controllo liofilo per Indicano urinario – Livello 1	5 x 1 ml
Z60118	Controllo liofilo per Indicano urinario – Livello 2	5 x 1 ml
Z60119	Controllo liofilo per Indicano urinario – Livelli 1 e 2	2 x 5 x 1 ml
Z699975902	Colonna Analitica Poroshell 120-EC-C 18 (50 x 4,6mm –2,7 μ m)	1 PZ
S90199511	Prefiltri Javelin	1 x 10 PZ
S29057U	Vial standard di vetro da 2 ml con tappo a vite	1 x 100 PZ



INDICANO URINARIO
(Cromatogrammi di Riferimento)

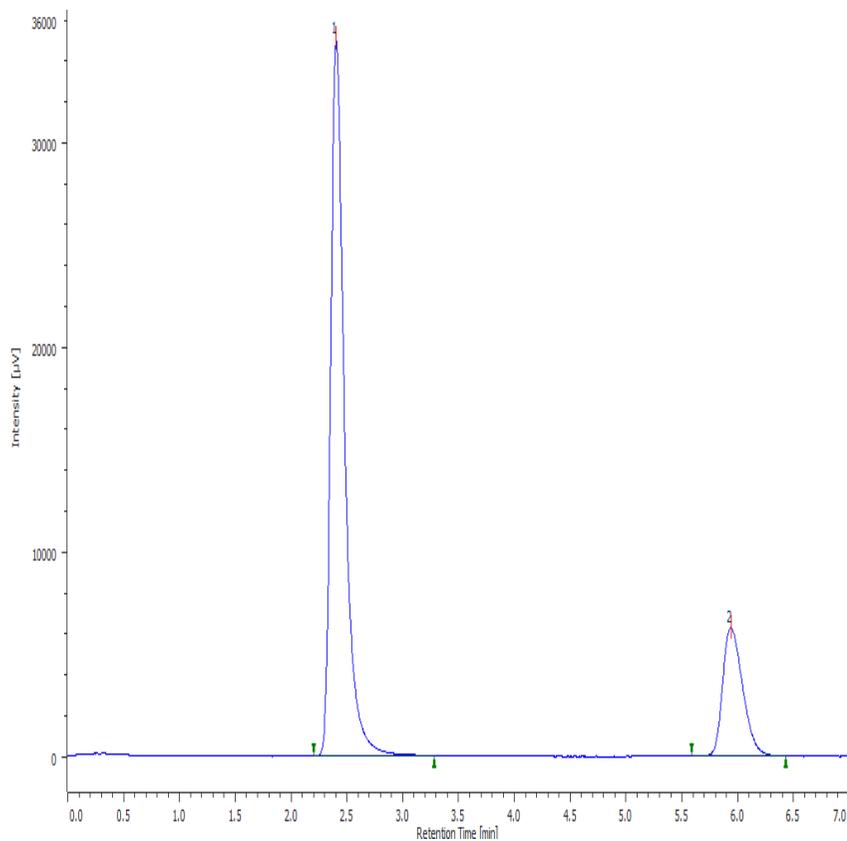


Fig. 2 :	Soluzione Test
	R.T. 2.40 Indicano
	R.T. 5.93 IS

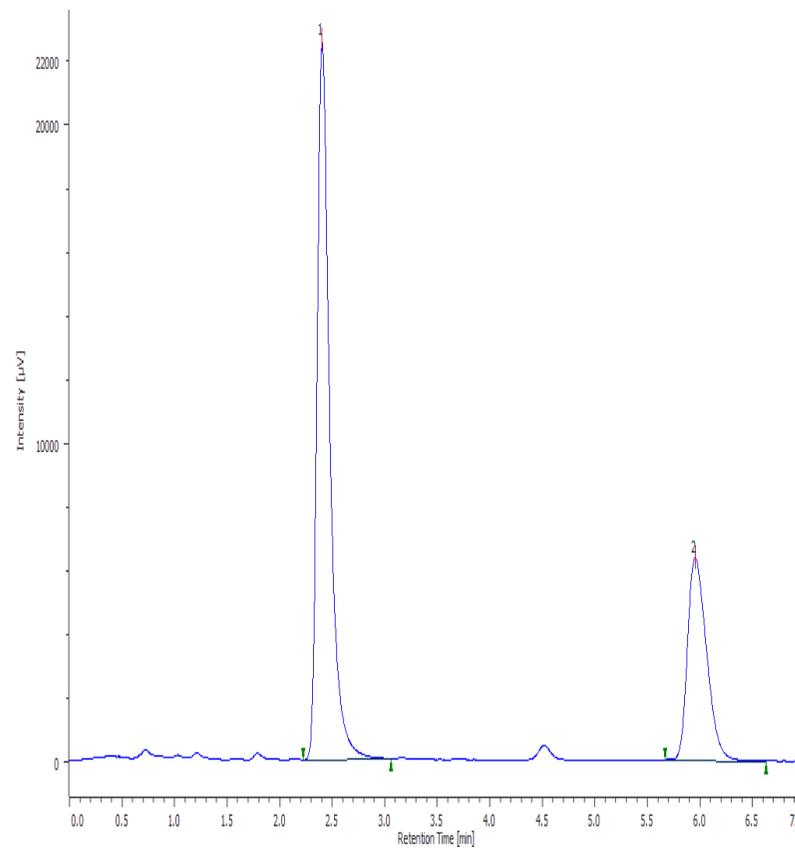


Fig. 3 :	Calibratore liofilo
	R.T. 2.40 Indicano 60 mg/l
	R.T. 5.95 IS

INDICANO URINARIO
(Cromatogrammi di Riferimento)

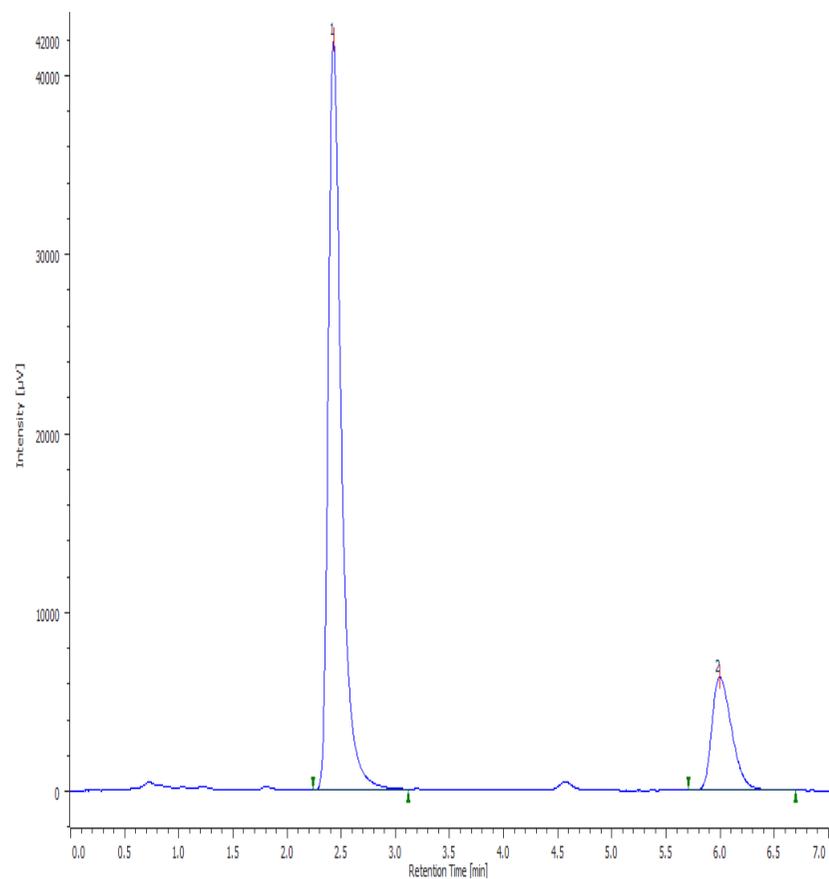


Fig. 4 :	Controllo alto
	R.T. 2.42 Indicano 110 mg/l
	R.T. 5.99 IS

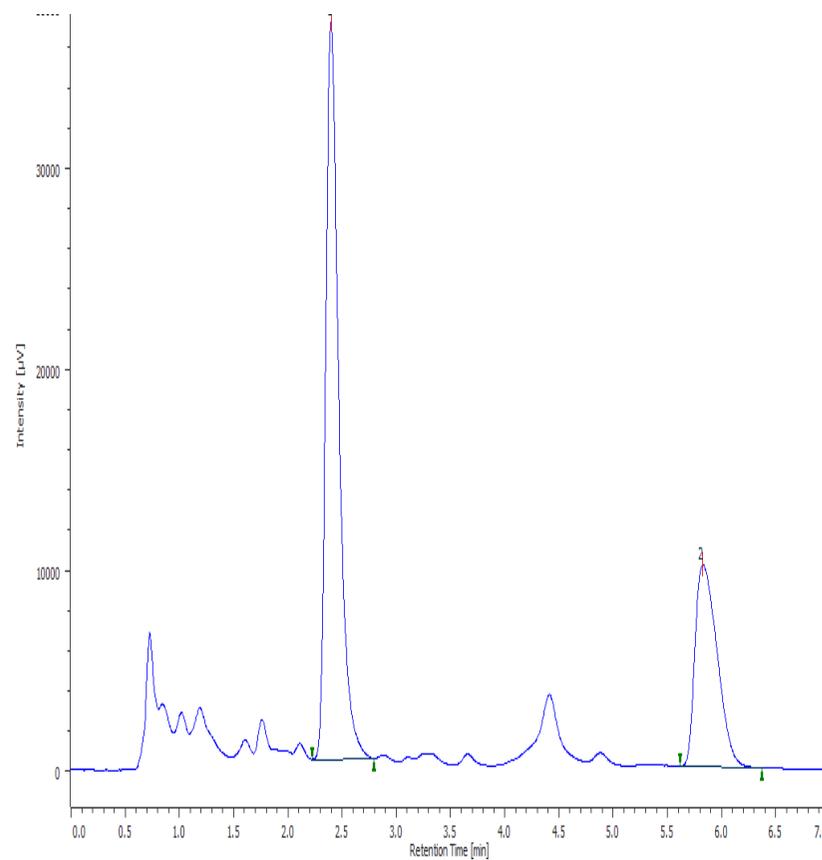


Fig. 5 :	Campione patologico
	R.T. 2.39 Indicano 93 mg/l
	R.T. 5.82 IS