

TRIMETILAMMINA N-OSSIDO (TMAO) PLASMATICO IN LC-MS/MS

REF LC21110

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.



ISTRUZIONI PER L'USO

IVD

Per uso diagnostico *in vitro*

CE



EUREKA S.R.L. LAB DIVISION
Via M. D'Antona 28
60033 Chiaravalle (AN) - Italy
Tel +39 071 7450790
eureka-support@sentinel.it
www.eurekakit.com

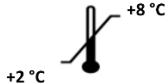
INDICE

DESTINAZIONE D'USO	3
CONTENUTO DEL KIT PER 100 TESTS	3
ACCESSORI E CONSUMABILI FORNIBILI A PARTE	4
STRUMENTAZIONE	4
MATRICE - PROCEDURA DI RACCOLTA E DI CONSERVAZIONE	5
VALORI DI RIFERIMENTO	5
PROCEDURA ANALITICA	6
GRADIENTE	6
PARAMETRI	7
FRAMMENTAZIONE DELL' ANALITA E DELLO STANDARD INTERNI DEUTERATO	7
CARATTERISTICHE TECNICHE - PARTE I	8
CARATTERISTICHE TECNICHE - PARTE II	9
CARATTERISTICHE TECNICHE - PARTE III	9
CROMATOGRAMMI DI RIFERIMENTO	10
AVVERTENZE GENERALI	12
ABBREVIAZIONI	13
BIBLIOGRAFIA	14
NORME DI RIFERIMENTO	15
SIMBOLI IVD	16

DESTINAZIONE D'USO

Dispositivo Medico diagnostico *in vitro* per l'analisi quantitativa della Trimetilammina N-ossido (TMAO) in plasma come ausilio alla diagnosi di formazione di placche aterosclerotiche, attivazione piastrinica e fibrosi renale. Metodo manuale per uso professionale.

CONTENUTO DEL KIT PER 100 TESTS

CONTENUTO	DESCRIZIONE	CONFEZIONAMENTO	AVVERTENZE
Reagente A	Soluzione Stabilizzante	1 x 5 ml	Stoccare a 
Reagente B	Soluzione Deproteinizzante + Standard Interno	1 x 40 ml	Stoccare a 
Calibratore urinario multiparametrico		7 x 1 x 1 ml	(confezionato separatamente – Codice LC21116 - vedi scheda tecnica)
Reagente M1	Fase Mobile M1	1 x 500 ml	Stoccare a 
Reagente M2	Fase Mobile M2	2 x 500 ml	Stoccare a 

ACCESSORI E CONSUMABILI FORNIBILI A PARTE

CODICE	DESCRIZIONE	CONFEZIONAMENTO
LC21116	Calibratore plasmatico per TMAO	7 x 2 x 1 ml
LC21119	Controllo plasmatico per TMAO – Livelli 1, 2 e 3	3 x 5 x 1 ml
SK21110	Starter kit per sostanze TMAO	2 x 1 ml
LC21111	Fase mobile M1	4 x 500 ml
LC21121	Fase mobile M2	4 x 500 ml
LC21130	Soluzione Standard interno deuterato	1 x 40 ml
S186004801	Colonna analitica Acquity UPLC BEH AMIDE (100 x 2,1 mm – 1,7 µm)	1 Pz
S29057U	Vial Standard di vetro da 2 ml con tappo a vite	1 x 100 Pz
S24717	Insert da 100 µl per vial Standard da 2 ml	1 x 100 Pz
L-30-210	Eppendorf da 1,5 ml con tappo	1 x 1000 Pz

STRUMENTAZIONE

DESCRIZIONE	AVVERTENZE
Strumento LC-MS triplo quadrupolo con valvola Divert - Analisi in gradiente binario – Modalità di lavoro MRM	Necessario
Computer gestionale	Necessario
Autocampionatore	Necessario

MATRICE - PROCEDURA DI RACCOLTA E DI CONSERVAZIONE

MATRICE	PROCEDURA
Plasma	Prelevare 3 ml di sangue venoso e raccoglierlo in una provetta con EDTA come anticoagulante. Centrifugare a 4000 rpm per 5 minuti. Separare il plasma e stoccarlo a  -15°C. Stabile per 4 settimane

VALORI DI RIFERIMENTO

ANALITA	RANGE DI NORMALITÀ ($\mu\text{mol/l}$)
TMAO	2,25 – 5,79 < 6,2 RISCHIO BASSO 6,2 – 9,9 RISCHIO MEDIO > 10,0 RISCHIO ELEVATO

FASE	DESCRIZIONE			
1	In vials idonee dispensare in sequenza			
		Calibratore (µl)	Campione (µl)	Controllo (µl)
	Calibratore	50		
	Campione		50	
	Controllo			50
	Reagente A	50	50	50
	Reagente B	400	400	400
	Vortex per 5 secondi			
2	Centrifugare a 14.000 rpm per 10 minuti.			
3	Trasferire il surnatante in vials.			
INIEZIONE	Iniettare 2-5 µl della soluzione nel sistema LC			

GRADIENTE

TEMPO (min)	% M1 (POMPA A)	% M2 (POMPA B)	FLUSSO (µl/min)
0.0	0	100	400
0.5	0	100	400
2.0	30	70	400
3.5	30	70	400
3.51	0	100	400
5.0	0	100	400

Parametri settati su ESI 4500

PARAMETRI	VALORI
CURTAIN GAS (CUR)	20
COLLISION GAS (CAD)	8
ION SPRAY VOLTAGE (IS)	5.500 V
TEMPERATURE (TEM)	250°C
ION SOURCE GAS 1 (GS1)	45
ION SOURCE GAS 2 (GS2)	45

FRAMMENTAZIONE DELL' ANALITA E DELLO STANDARD INTERNI DEUTERATO

ANALITA	RT (min)	FRAMMENTI		STANDARD INTERNO DEUTERATO USATO PER LA CALIBRAZIONE	RT (min)	FRAMMENTI	
		PARENT ION (Q1)	FRAGMENT ION (Q3)			PARENT ION (Q1)	FRAGMENT ION (Q3)
TMAO	3.8	75,7	57,8	TMAO-D9	3.8	85,0	65,9

CONCENTRAZIONI	DEFINIZIONI
C LLOQ	Concentrazione al limite minimo di quantificazione
C1	Concentrazione bassa
C2	Concentrazione media
C3	Concentrazione alta
Max C	La più alta concentrazione

ANALITA	CONCENTRAZIONI USATE PER CALCOLARE LA RIPRODUCIBILITÀ E L'ACCURATEZZA (ng/ml)				
	C LLOQ	C1	C2	C3	MAX C
TMAO	6,3	150	344,8	550	3.391,3

ANALITA	ACCURATEZZA INTRA SERIE (ERRORE RELATIVO %)		ACCURATEZZA INTER SERIE (ERRORE RELATIVO %)	
	C1 (%)	C3 (%)	C1 (%)	C3 (%)
TMAO	2,85	0,83	7,12	3,62

ANALITA	RIPRODUCIBILITÀ INTRA SERIE (COEFFICIENTE DI VARIAZIONE %)			RIPRODUCIBILITÀ INTER SERIE (COEFFICIENTE DI VARIAZIONE %)		
	C LLOQ %	C2 %	Max C %	C LLOQ %	C2 %	Max C %
TMAO	4,43	4,46	2,73	7,77	6,48	5,62

CARATTERISTICHE TECNICHE - PARTE III

ANALITA	LLOD (ng/ml)	LINEARITÀ ng/ml	COEFFICIENTE DI CORRELAZIONE R2 + DEV STD
TMAO	2,1	6,3 – 13.540	0,9988 ± 0,0006

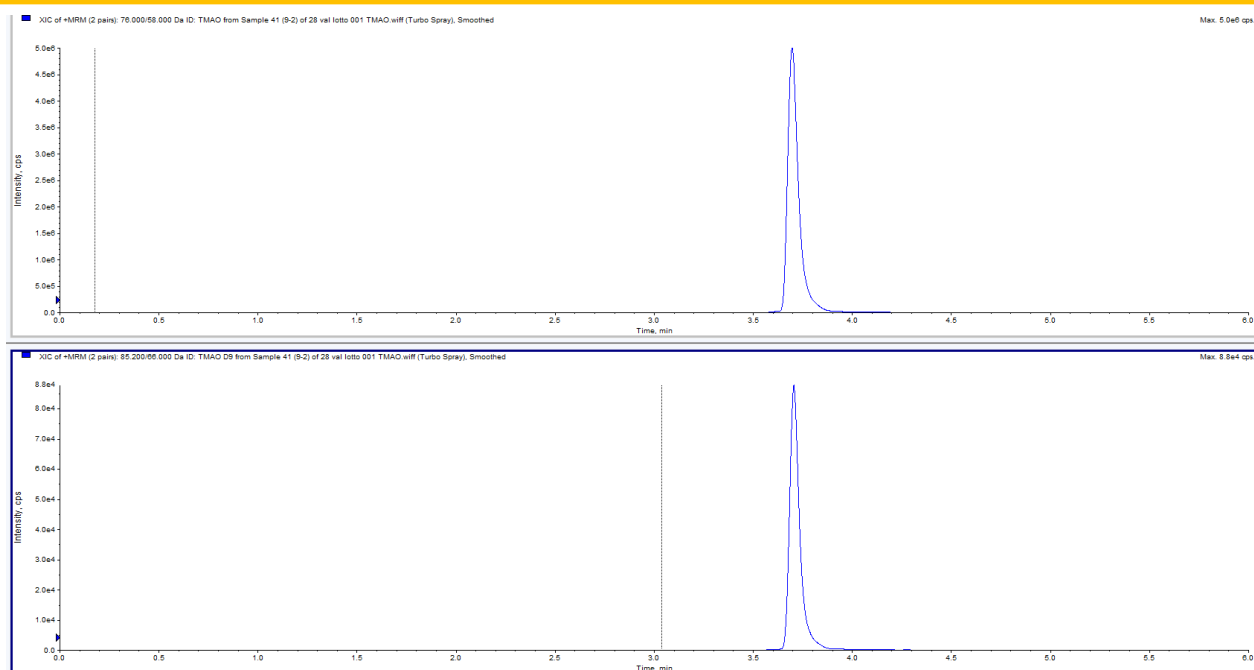


Fig. 1 Calibratore livello 6 per TMAO

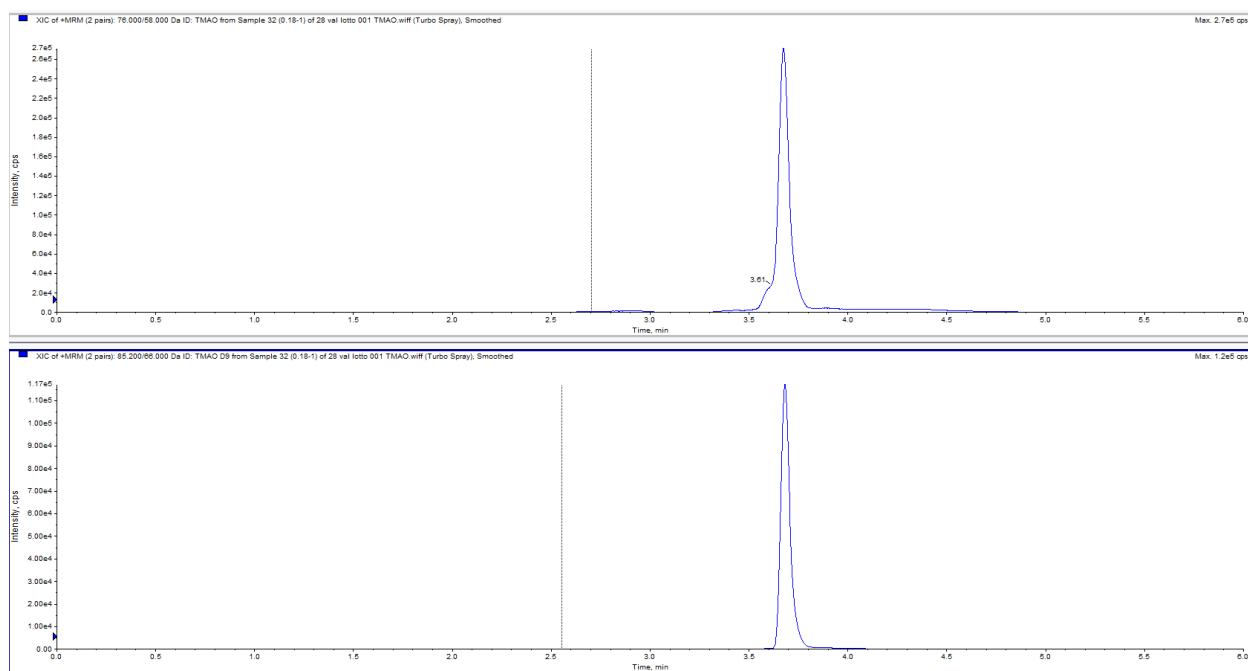


Fig. 2 Controllo livello 1 per TMAO

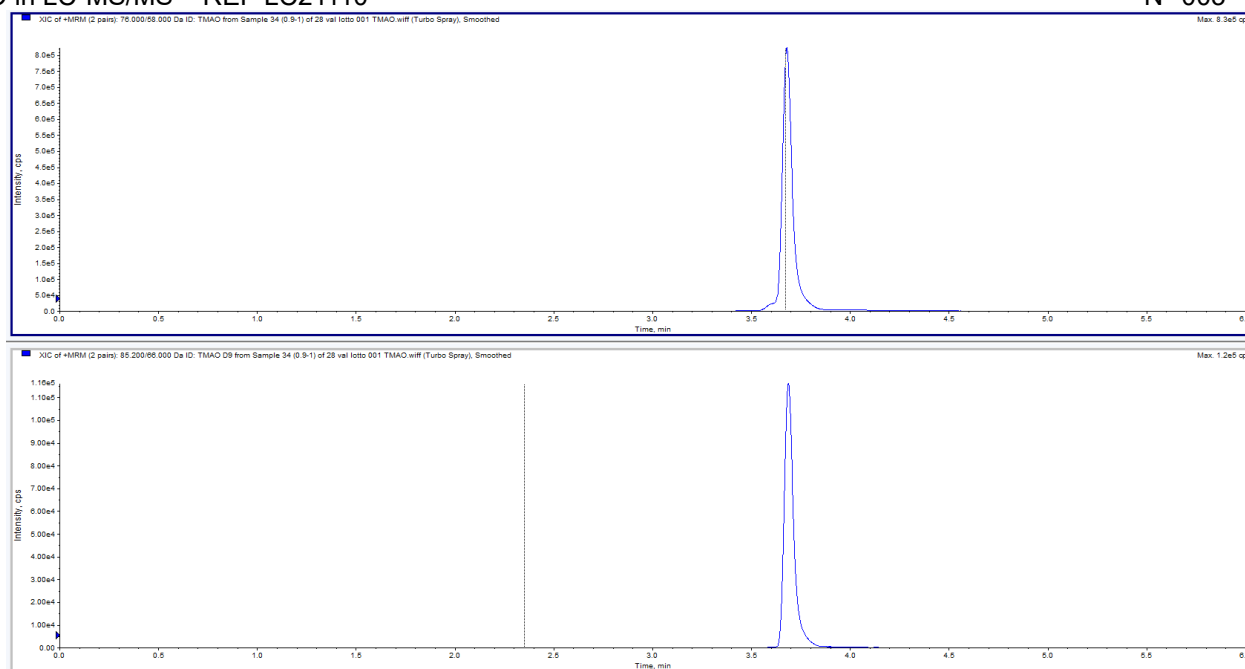
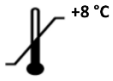


Fig. 3 Campione a concentrazione 5.8 $\mu\text{mol/L}$ di TMAO.

AVVERTENZE GENERALI**1. STOCCAGGIO E DURATA DI CONSERVAZIONE**

Tutti i componenti sono pronti all'uso. Sono stabili per 3 anni a $+2^{\circ}\text{C}$  tranne il Reagente A (Soluzione Deproteinizzante + Standard Interno deuterato) che deve essere conservata a

 -15°C
 -25°C

Dopo l'apertura la durata dei nostri Standard Interni è di 6 mesi se conservati a -25°C .

2. TRATTAMENTO DELLA NUOVA COLONNA

Installare la nuova colonna analitica ACQUITY UPLC BEH AMIDE (100 x 2,1 mm - 1,7 μm) termostata a 30°C . Scollegare il rilevatore e fluxare 30 ml di una soluzione di Acetonitrile 100% e impostare il flusso a 400 $\mu\text{l}/\text{minuto}$. Non riciclare le soluzioni di lavaggio.

3. CONDIZIONAMENTO DELLA COLONNA

Condizionare la nuova colonna analitica ACQUITY UPLC BEH AMIDE (100 x 2,1 mm - 1,7 μm) con Fase Mobile M2 100% per almeno 15 minuti al flusso di 400 $\mu\text{l}/\text{minuto}$. Non è possibile effettuare analisi in fase di riciclo. Se la temperatura ambiente è $>20^{\circ}\text{C}$, conservare la fase mobile

 $+8^{\circ}\text{C}$
a $+2^{\circ}\text{C}$

da una sessione analitica all'altra.

4. PULIZIA DELLA COLONNA

Scollegare il rilevatore. Fluxare una soluzione di Acetonitrile 100% per 10 minuti al flusso di 400 $\mu\text{l}/\text{minuto}$. La colonna va stoccata in una soluzione di Acetonitrile 100%.

5. LAVAGGIO SIRINGA AUTOCAMPIONATORE

Lavare la siringa con Acetonitrile prima di usarla.

ABBREVIAZIONI

ABBREVIAZIONI	DEFINIZIONI
es. 5 x 1 x 1 ml	N° di livelli x N° di vials x volume
Es. confezionamento Starter kit: 27 x 1 ml	N° di vial x volume Nota: ogni vial contiene una molecola (analita o internal standard deuterato)
IS	Standard Interno
TMAO	Trimetilammina-N-ossido
Pz	Pezzo/pezzi
RT	Tempo di Ritenzione
STD DEV	Deviazione Standard

BIBLIOGRAFIA

1. Arne Gessner, *et al.* Trimethylamine-N-oxide (TMAO) determined by LC-MS/MS: distribution and correlates in the population-based PopGen cohort, Clin Chem Lab Med, 2020
2. Xun Jia, *et al.* Simultaneous Measurement of Urinary Trimethylamine (TMA) and Trimethylamine N-Oxide (TMAO) by Liquid Chromatography–Mass Spectrometry, Molecules, 2020
3. Weiming Liu, *et al.* Elevated plasma trimethylamine-N-oxide levels are associated with diabetic retinopathy, Acta Diabetologica, 2021
4. Yen Chin Koay, *et al.* Plasma Levels of TMAO can be Increased with ‘Healthy’ and ‘Unhealthy’ Diets and Do Not Correlate with the Extent of Atherosclerosis but with Plaque Instability, Cardiovasc Res, 2021
5. Lu Chen, *et al.* Changes in the concentrations of trimethylamine N-oxide (TMAO) and its precursors in patients with amyotrophic lateral sclerosis, Scientific Reports, 2020
6. Signe A. Winther, *et al.* Utility of Plasma Concentration of Trimethylamine N-Oxide in Predicting Cardiovascular and Renal Complications in Individuals With Type 1 Diabetes, Diabetes Care, 2019

NORME DI RIFERIMENTO

Sistema Qualità conforme alle normative:

EN ISO 13485:2016

EN ISO 9001:2015

Ogni modifica apportata al Dispositivo Medico se non autorizzata da Eureka S.r.l. - Lab Division rende la presente dichiarazione non valida.

Si dichiara che i dispositivi in oggetto ottemperano alle seguenti **Norme Tecniche**:

EN ISO 13485:2016

EN ISO 13612:2002

EN ISO 14971:2012

EN ISO 15223-1:2016

EN ISO 18113-1:2011

EN ISO 18113-2:2011

Si dichiara che il dispositivo in oggetto viene commercializzato in confezione non sterile.

NUMBER	SYMBOL	DESCRIPTION
1		Manufacturer
2		Product Model Number / Designation or Part Number
3		Caution, consult accompanying documents
4		Product Lot Number
5		Use By (Expiry)
6		Consult Operating Instructions
7		Date of manufacture
8		Temperature limitation
9		For <i>in vitro</i> diagnostic use
10		European Union conformity
11		Packaging