

ETILGLUCURONIDE ED ETILSOLFATO URINARI in LC-MS – Cod. LC78010

INTRODUZIONE

L'Etilglucuronide è una molecola non volatile, polare, relativamente stabile, formata dalla coniugazione dell'etanolo con l'acido glucuronico con la mediazione delle UDP-glucuronil transferasi (UGT), una superfamiglia di enzimi altamente polimorfici. L'Etilglucuronide sembra essere sintetizzato da varie isoforme delle UGT cosicché differenze funzionali individuali non debbano risultare in una distorsione del dato analitico. Di conseguenza, la mancanza in un individuo di una isoforma dell'enzima non fa supporre variazioni significative nella formazione di Etilglucuronide, e quindi individui appartenenti a etnie differenti sintetizzano con ogni probabilità la stessa percentuale del composto in seguito all'assunzione di alcol. In generale, è stato stimato che lo 0.02-0.06% dell'etanolo assunto sia trasformato in Etilglucuronide.

Il dosaggio dell'Etilglucuronide nelle urine permette di monitorare l'abuso acuto di alcol.

Con la seguente metodica è possibile determinare in LC/MS oltre alla concentrazione dell'Etilglucuronide anche l'Etilsolfato urinario.



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



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.

N° 008	Etilglucuronide ed Etilsolfato urinari in LC/MS	06/2024
--------	---	---------

CARATTERISTICHE DEL KIT

Principio del metodo :

Il presente metodo consente di dosare l'Etilglucuronide e l'Etilsolfato urinari dopo una semplice diluizione del campione e lettura in LC-MS.

Recupero del Metodo : 100 %

Sensibilità del Metodo (LLOD) : 0,05 mg/L

Minima Concentrazione analizzabile (LLOQ) : 0,1 mg/L

Range dinamico del Metodo : 0,1 - 5 mg/L

Accuratezza intra serie (errore relativo %) **Etilglucuronide:**

C LLOQ	Cm	Cs
0,1 mg/l	0,5 mg/l	1 mg/l
12,3%	5,1%	5,1%

Accuratezza intra serie (errore relativo %) **Etilsolfato:**

C LLOQ	Cm	Cs
0,1 mg/l	0,5 mg/l	1 mg/l
9,0%	8,3%	2,8%

Riproducibilità intra serie (errore relativo %) **Etilglucuronide:**

C LLOQ	Cm	Cs
0,1 mg/l	0,5 mg/l	1 mg/l
4,3%	3,5%	5,4%

Riproducibilità intra serie (errore relativo %) **Etilsolfato:**

C LLOQ	Cm	Cs
0,1 mg/l	0,5 mg/l	1 mg/l
7,9%	3,0%	5,4%

Valore di cut-off: 0,5 mg/L

Rif. Procedure applicative del procedimento n.99/cu 30 ottobre 2007

Contenuto della Confezione :

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

Reagente A – Soluzione Diluente, 1 x 50 ml

Reagente B – Soluzione Standard Interno per Etilglucuronide, 1 x 2,5 ml

Stoccare a – 20 °C

Reagente C – Soluzione Standard Interno per Etilsolfato, 1 x 2,5 ml

Stoccare a – 20 °C

Calibratore urinario liofilo – Livello 1, 2 x 1 ml

Codice LC78016 Confezionato a parte - vedi scheda tecnica

Calibratore urinario liofilo – Livello 2, 2 x 1 ml

Codice LC78016 Confezionato a parte - vedi scheda tecnica

Calibratore urinario liofilo – Livello 3, 2 x 1 ml

Codice LC78016 Confezionato a parte - vedi scheda tecnica

Calibratore urinario liofilo – Livello 4, 2 x 1 ml

Codice LC78016 Confezionato a parte - vedi scheda tecnica

Calibratore urinario liofilo – Livello 5, 2 x 1 ml

Codice LC78016 Confezionato a parte - vedi scheda tecnica

Reagente M1 – Fase Mobile M1, 1 x 500 ml

Reagente M2 – Fase Mobile M2, 1 x 500 ml

Dotazione strumentale minima richiesta :

Strumento LC-MS triplo quadrupolo
Modalità di lavoro MRM, ESI negativo
Computer gestionale

Dotazione opzionale :

Autocampionatore

Modalità di prelievo urinario :

Campioni di urina mantenuti a 4 o -20° C dal campionamento all'analisi. Stabile 1 mese.

Provette contenenti ioni fluoruro per inattivare la β -glucuronidasi (limitazione dei falsi negativi).

Provette contenenti sali di azide per prevenire la crescita batterica (limitazione dei falsi positivi).

SampleCheck assay: permette di identificare le urine con crescita batterica (risultati tra 110 e 150%).

PROCEDURA ANALITICA

FASE 1 :

In provette da 10 ml idonee dispensare in sequenza.

	Calibratore	Campione	Controllo
Reagente A - Sol. diluente	475 µl	475 µl	475 µl
Calibratore	25 µl		
Campione		25 µl	
Controllo			25 µl
Reagente B – Sol. Std Interno per Etilglucuronide	25 µl	25 µl	25 µl
Reagente C – Sol. Std Interno per Etilsolfato	25 µl	25 µl	25 µl

Al vortex per 20 secondi

INIEZIONE :

- Iniettare 20 µl della soluzione nel sistema LC

Etilglucuronide ed Etilsolfato urinari - Avvertenze

CONDIZIONAMENTO DELLA COLONNA

Installare la colonna analitica nuova Polaris 3u C18 A (100 x 2 mm, 3 µm). Termostatare la colonna a 40°C. Disconnettere il detector e far passare per 10 minuti una soluzione di H₂O : Fase Mobile M1 (5 : 95 v/v) al flusso di 300 µl/minuto poi una soluzione di H₂O : Fase Mobile M2 (5 : 95 v/v) al flusso di 300 µl/minuto. **Non riciclare i liquidi di lavaggio.** Condizionare ulteriormente con una soluzione di H₂O : Fase Mobile M1 (5 : 95 v/v) al flusso di 300 µl/minuto per 5 minuti.

NON è possibile effettuare analisi a ricircolo di fase.

Se la T Amb del Laboratorio è > 25°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 una soluzione di H₂O : Fase Mobile M2 (5 : 95 v/v) per 10 minuti al flusso di 300 µl/minuto scaricandola. La colonna va stoccata in una soluzione di H₂O : Fase Mobile M2 (5 : 95 v/v).

LAVAGGIO SIRINGA AUTOCAMPIONATORE

Lavare la siringa, prima di ogni seduta analitica, con Metanolo. Lavaggio dell'ago dell'autocampionatore intra - serie con Metanolo.

PARENT ION CON TRIPLO QUADRUPOLO VARIAN 320 ESI NEGATIVO

ANALITA	PARENT ION
Etilglucuronide	221.0
Etilglucuronide – D5	226.0
Etilsolfato	125.8
Etilsolfato – D5	130.8

SETTAGGIO DEI FLUSSI

GRADIENTE			
Tempo (min)	% M1 (POMPA A)	% M2 (POMPA B)	Flusso (µl/min)
0 – 0:50	95	5	300
0:50 – 2:30	95	5	300
2:30 – 2:60	5	95	300
2:60 – 2:61	5	95	300
2:61 – 3:50	95	5	300

ACCESSORI E CONSUMABILI

CODICE	DESCRIZIONE	CONFEZIONE
LC78016	Calibratore urinario per Etilglucuronide ed Etilsolfato	5 x 2 x 1 ml
LC78019	Controllo urinario per Etilglucuronide ed Etilsolfato – Livelli 1 e 2	2 x 5 x 1 ml
SK78010	Starter kit per Etilglucuronide ed Etilsolfato	1 Pz
ZA2001100X020	Colonna analitica Polaris 3 μ C 18 A (100 x 2 mm, 3 μ m)	1 Pz
Z51843550	Vial di vetro a volume ridotto da 1,5 ml a 15 μ l	1 x 100 Pz
Z51820717	Tappi per vial di vetro a volume ridotto da 1,5 ml a 15 μ l	1 x 100 Pz



Etilglucuronide ed Etilsolfato urinari

(Cromatogrammi/Spettri di riferimento LC-MS)

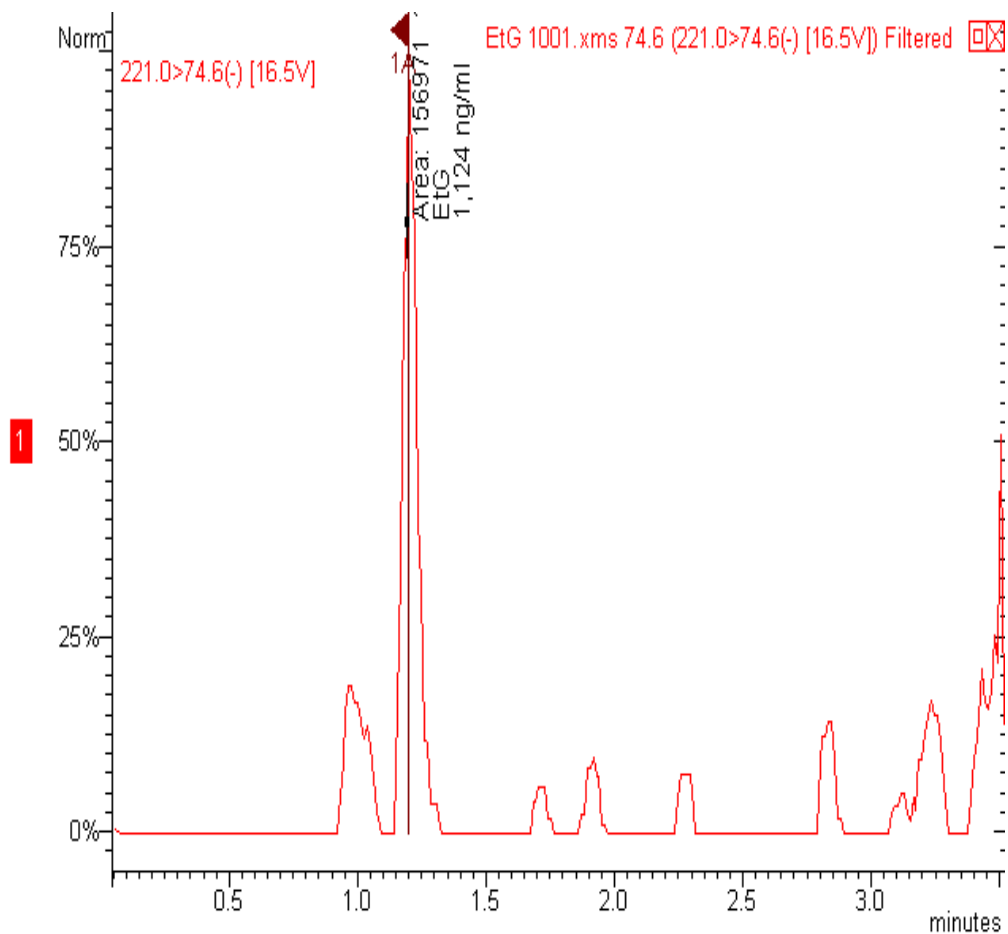


Fig. 1 : *Calibratore liofilo*

R.T. 1.25	Etilglucuronide	1 mg/l
-----------	-----------------	--------

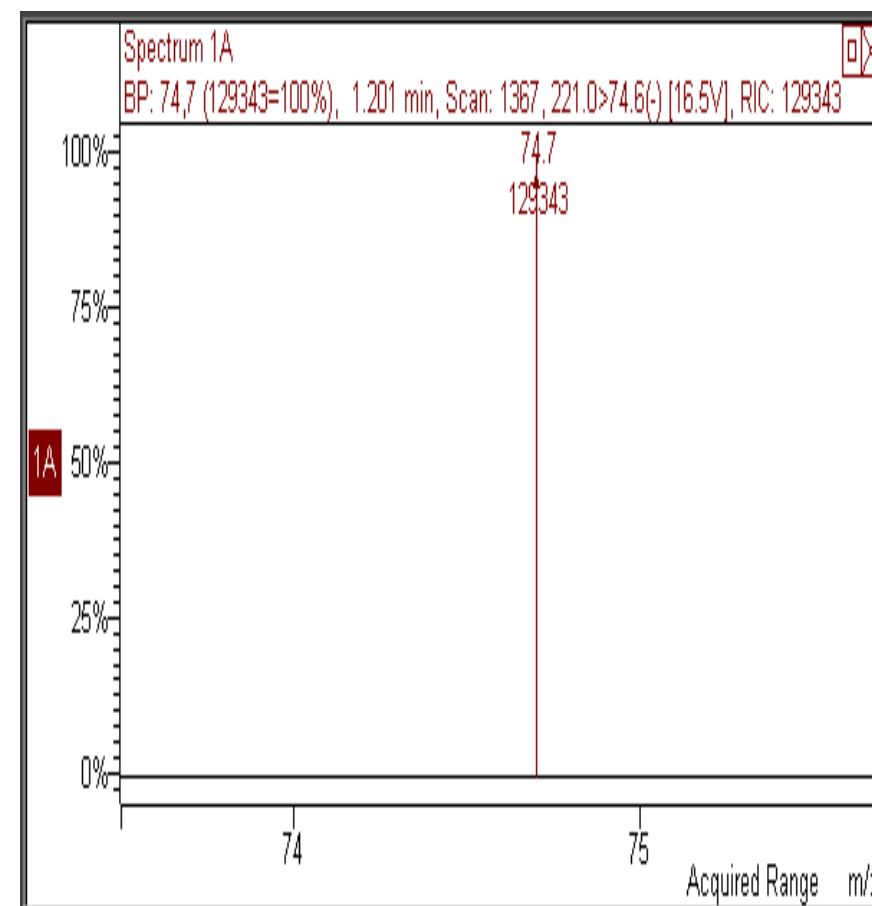


Fig. 2 : *Spettro di Massa dell'Etilglucuronide*

--	--

Etilglucuronide ed Etilsolfato urinari

(Cromatogrammi/Spettri di riferimento LC-MS)

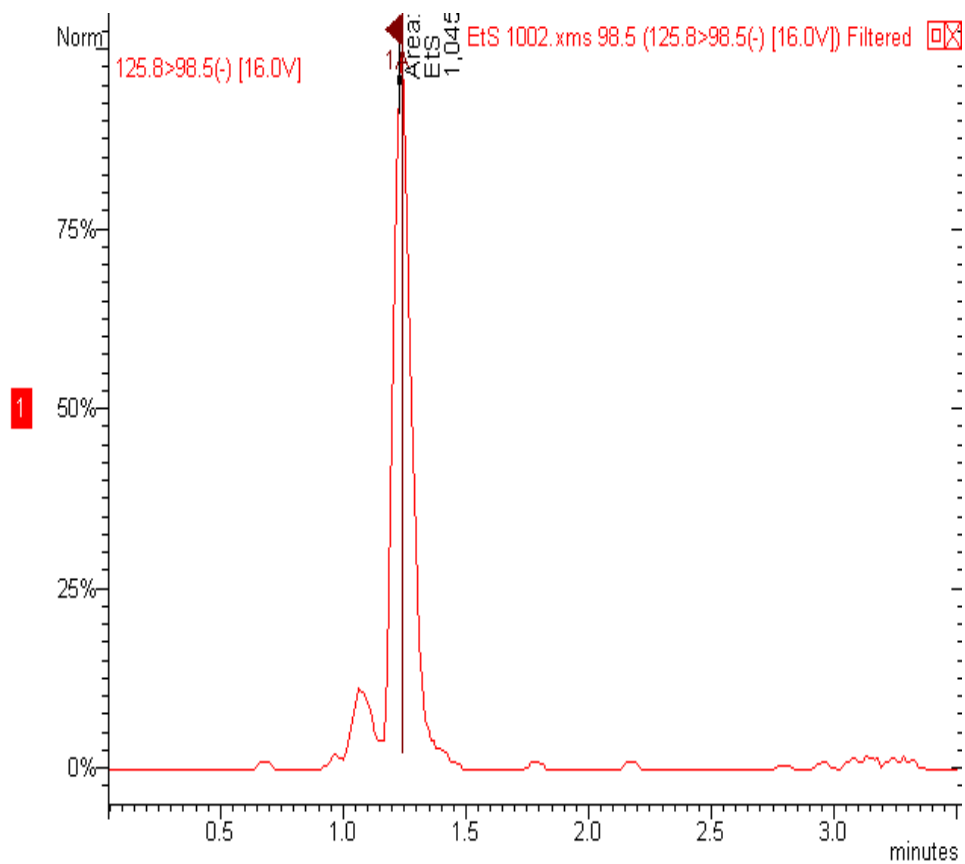


Fig. 3 :	Calibratore liofilo
	R.T. 1.25 Etilsolfato 1 mg/l

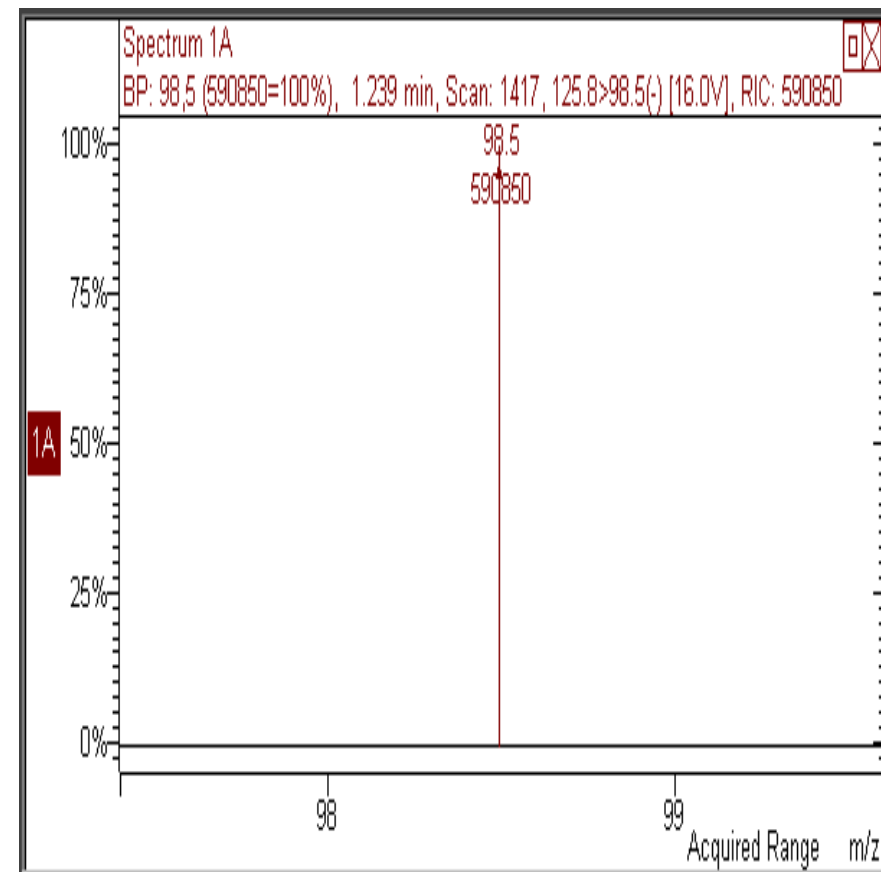


Fig. 4 :	Spettro di Massa dell'Etilsolfato

Etilglucuronide ed Etilsolfato urinari

(Cromatogrammi/Spettri di riferimento LC-MS)

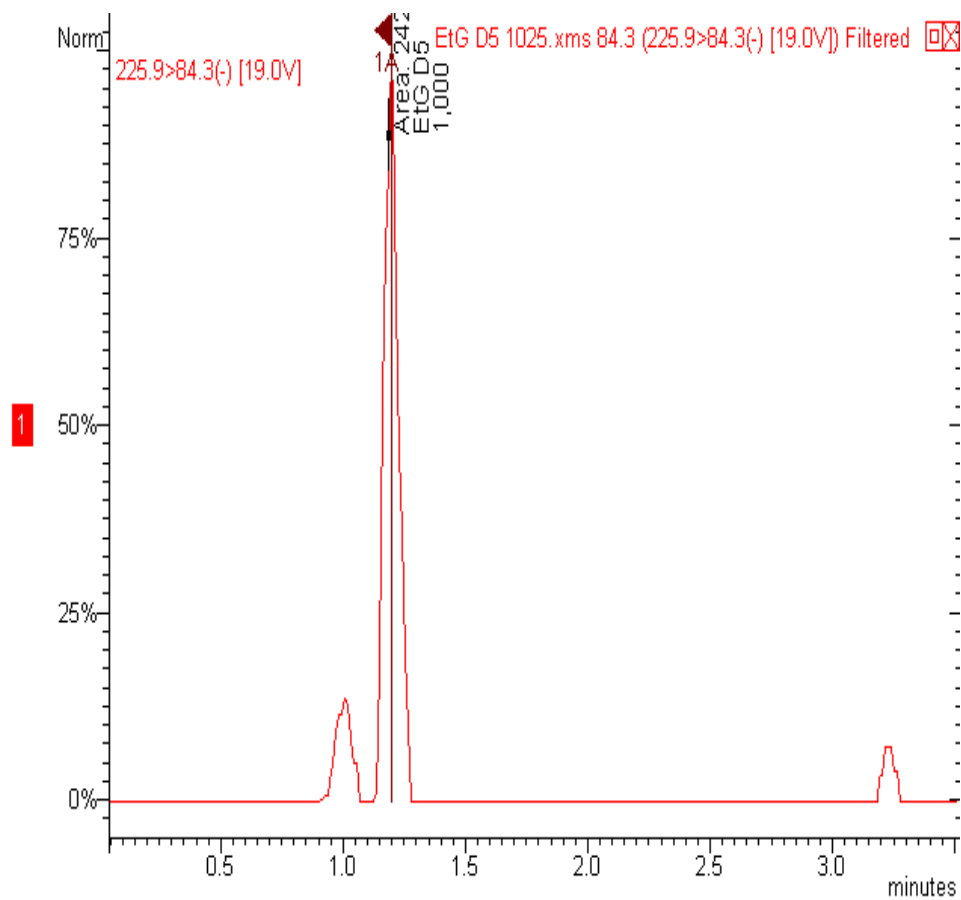


Fig. 5 :	Calibratore liofilo
	R.T. 1.15 Etilglucuronide-D5

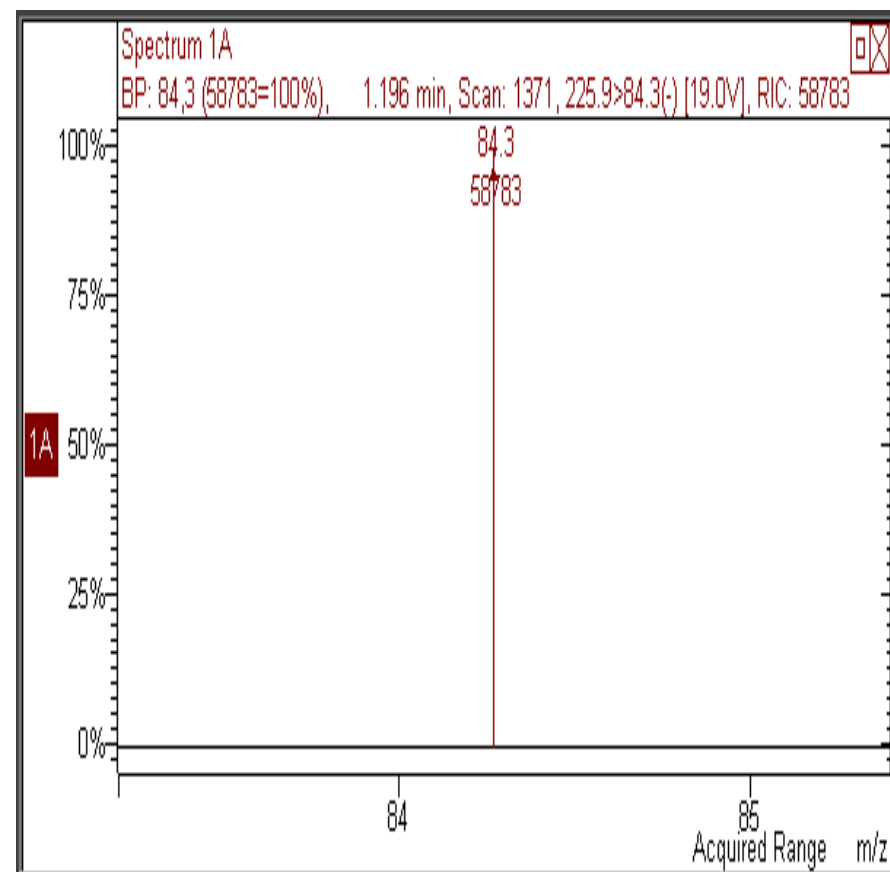


Fig. 6 :	Spettro di Massa dell'Etilglucuronide-D5

Etilglucuronide ed Etilsolfato urinari

(Cromatogrammi/Spettri di riferimento LC-MS)

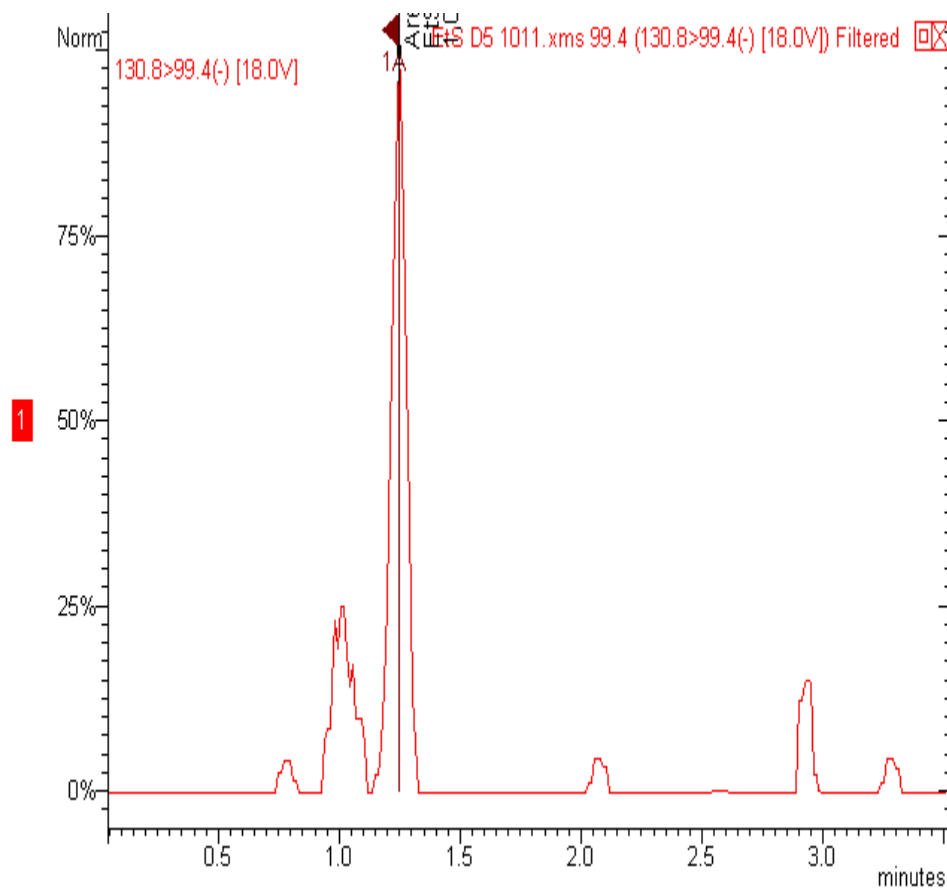


Fig. 7 :	Calibratore liofilo
	R.T. 1.25 Etilsolfato-D5

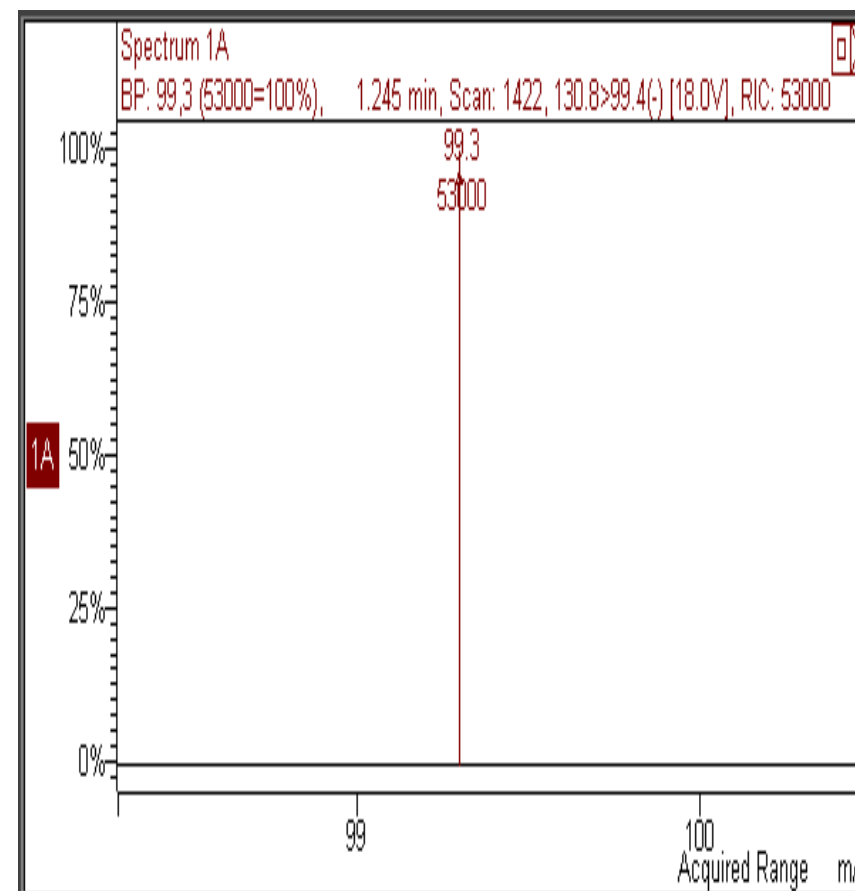


Fig. 8 :	Spettro di Massa dell'Etilsolfato-D5