

ACIDO MICOFENOLICO PLASMATICO/SIERICO in UV – FAST – Codice Z01960

INTRODUZIONE

L'Acido Micofenolico (Mofetil o MPA) è un potente immunosoppressore che inibisce in modo reversibile l'enzima **Inosina-monofosfato deidrogenasi Tipo 2** coinvolto nella sintesi della guanosina. Poiché il modo d'azione dell'MPA differisce dalla Ciclosporina, Tacrolimus e Sirolimus può essere co-prescritto come parte di un pannello farmacologico.

MPA è metabolizzato tramite glucuronazione per formare un metabolita inattivo (MPA-glucuronide) e anche un metabolita minore (MPA-acil-glucoronide).

Il metodo proposto consente di determinare la concentrazione plasmatica o sierica dell'Acido Micofenolico dopo precipitazione delle proteine plasmatiche e iniezione in HPLC.



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° 003	Acido Micofenolico sierico e/o plasmatico in UV	09/2024
--------	---	---------

CARATTERISTICHE DEL METODO

Principio del metodo :

Il presente metodo consente di determinare l'Acido Micofenolico dopo precipitazione e lettura in UV.

Recupero del Metodo : > 98 %

Sensibilità Analitica (LLOD) : 0,04 mg/l

Minima concentrazione analizzabile (LLOQ) : 0,1 mg/l

Linearità : 0,1 – 60 mg/l

Intervallo di Riferimento : 4 - 15 mg/l

Accuratezza intra serie (errore relativo %) :

Ci	Cs
2 mg/l	10 mg/l
11,5%	5,8%

Accuratezza inter serie (errore relativo %) :

Ci	Cs
2 mg/l	10 mg/l
14,9%	5,3%

Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %) :

C LLOQ	Cm	CA
0,1 mg/l	5 mg/l	20 mg/l
5,0%	3,0%	2,0%

Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %) :

C LLOQ	Cm	CA
0,1 mg/l	5 mg/l	20 mg/l
13,7%	5,6%	3,0%

Coefficiente di correlazione R2 + Dev. std: 0,9933 ± 0,0025

Contenuto della Confezione :

Tutti i reagenti sono pronti all'uso e stabili 3 anni a Temperatura Ambiente (≤ 20 °C). Il Calibratore è stabile 48 mesi a 2–8 °C.

Reagente A – Deproteinizzante con Standard Interno, **1 x 10 ml**

Reagente B – Soluzione di Diluizione, **1 x 15 ml**

Reagente C – Soluzione Test, **1 x 0,5 ml**

Stoccare a 2-8 °C

Calibratore Plasmatico Liofilo, 1 x 2 ml

Codice Z01916
Confezionato a parte - vedi scheda tecnica

Reagente M – Fase Mobile, **3 x 500 ml**

Dotazione strumentale minima richiesta :

Strumento HPLC isocratico con loop da 20 µl
Detector $\lambda = 210 \text{ nm}$
Registratore di cromatogrammi

Dotazione opzionale :

Autocampionatore
Computer gestionale

Modalità di prelievo :

Prelevare 3 ml di sangue venoso in una provetta senza gel per il siero e con Eparina come anticoagulante per il plasma.
Centrifugare a 4000 rpm per 5 minuti.
Separare il siero e stoccarlo a -20°C . Stabile 4 settimane.

PROCEDURA PREANALITICA

In una provetta pipettare :

- 450 µl di H₂O di grado HPLC
- 50 µl di **Reagente C – Soluzione Test**

NOTA : Prima di iniziare la seduta analitica è consigliabile iniettare 20 µl di questa soluzione nel sistema cromatografico per identificare il tempo di ritenzione dell'Acido Micofenolico che deve essere simile a quello riportato in fig.1. Se il Test ha dato esito positivo si può procedere alla seduta analitica. Se così non fosse verificare la funzionalità del sistema analitico.

PROCEDURA ANALITICA

FASE 1 : Preparazione del Campione

Dispensare in provette tipo eppendorf :

	Calibratore	Controllo	Campione
Calibratore	100 µl		
Controllo		100 µl	
Campione			100 µl
Reagente A – Deprot. con Standard Interno	100 µl	100 µl	100 µl

Attenzione: si consiglia di deproteinizzare direttamente sul Vortex per almeno 10 secondi

FASE 2 : Centrifugare a 14.000 rpm per 10 minuti.

FASE 3 : Diluizione

Prelevare 150 µl di surnatante limpido ed aggiungere 150 µl di **Reagente B – Soluzione di Diluizione**

Agitare accuratamente al Vortex

N.B.: l'eluato è stabile 2 giorni a 2-8 °C

INIEZIONE :

- Iniettare 20 µl nel cromatografo HPLC ed attendere la stampa del cromatogramma.

ACIDO MICOFENOLICO in UV - AVVERTENZE

REAGENTE C : SOLUZIONE TEST

Acido Micofenolico	circa 100 mg /l
--------------------	-----------------

PARAMETRI DEL DETECTOR UV/VIS

λ	210 nm
-----------	--------

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 <u>nuova</u> 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 : Metanolo (20 : 80 v / v) al flusso di 1,0 ml/minuto. Non riciclare i liquidi di lavaggio. Far passare 30 ml di una soluzione di H₂O : Metanolo (80 : 20 v / v) al flusso di 1,0 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 20 ml. Al termine, iniettare il test chimico e verificare la congruità della separazione. E' 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 15 ml di H₂O : Acetonitrile o Metanolo (80 : 20 v / v) al flusso di 1,0 ml/minuto e scaricare. Flussare una soluzione di H₂O : Acetonitrile o Metanolo (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 o Metanolo (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	20 μ l
Flusso di lavoro consigliato	1,0 ml/minuto
Pressione corrispondente	Circa 100 bar

ACCESSORI E CONSUMABILI

CODICE	DESCRIZIONE	CONFEZIONE
Z01916	Calibratore per Acido Micofenolico sierico e/o plasmatico	4 x 2 ml
Z01919	Controllo per Acido Micofenolico sierico e/o plasmatico - Livelli 1 e 2	2 x 5 x 2 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
S29307U	Vial di vetro a volume ridotto da 1,5 ml a 15 μ l + tappini	1 x 100 PZ

AC. MICOFENOLICO PLASMATICO/ SIERICO IN UV
(Cromatogrammi di riferimento)

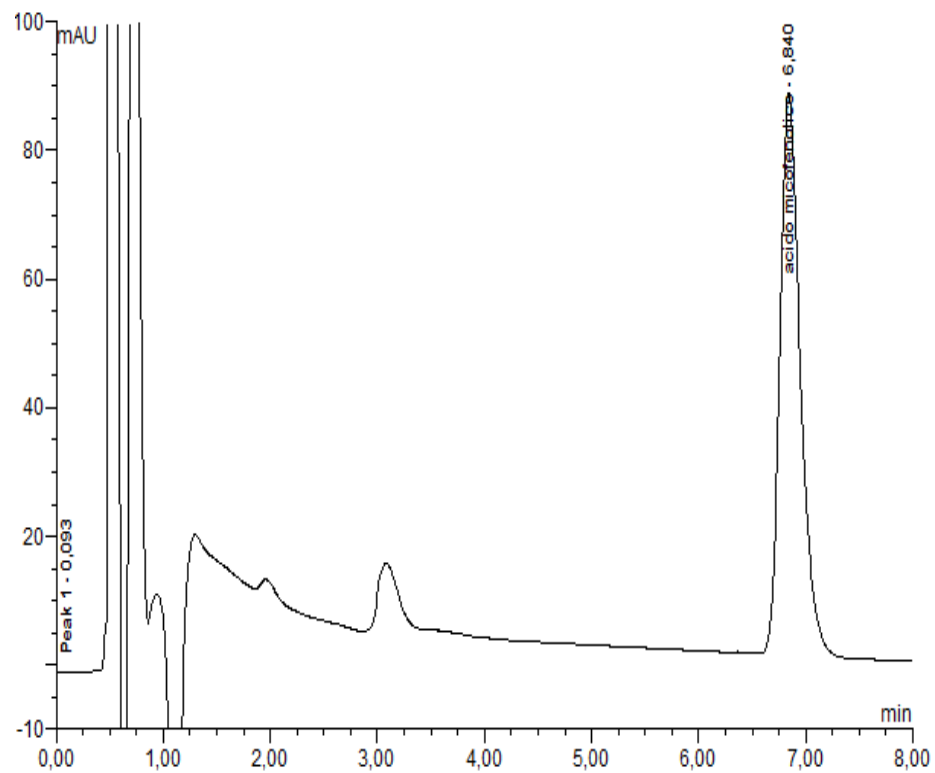


Fig. 1	Soluzione Test
	R.T. 6.8 Acido Micofenolico

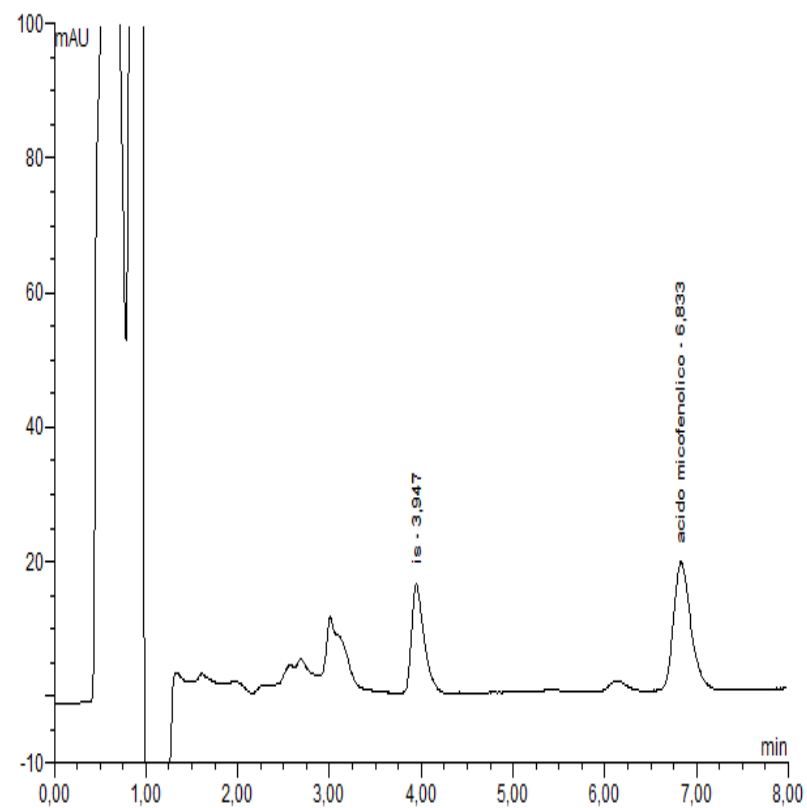


Fig. 2	Calibratore liofilo plasmatico
	R.T. 3.9 Standard Interno
	R.T. 6.8 Acido Micofenolico