

ACIDO VALPROICO PLASMATICO IN UV - FAST

Cod. Z05310

CE

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.

INTRODUZIONE

BIOCHIMICA

L'acido valproico (VPA) è un anticonvulsivante largamente utilizzato sia nella terapia delle diverse forme di epilessia generalizzata sia nelle epilessie parziali, in particolare quelle idiopatiche. Viene anche impiegato in alcuni disturbi dell'umore (mania, disturbo bipolare). Il VPA agisce attraverso molteplici meccanismi, non del tutto chiariti, ma questa sua complessità è probabilmente alla base dell'ampio spettro d'azione. E' rapidamente assorbito nel tratto intestinale e si lega quasi completamente alle proteine plasmatiche. La biodisponibilità del sodio valproato è maggiore del 90% dopo somministrazione orale o endovenosa. Il picco ematico si raggiunge dopo 1 – 4 ore in rapporto alla formulazione. Lo steady-state della concentrazione plasmatica si raggiunge rapidamente (3-4 giorni) dopo somministrazione orale; con la forma endovenosa lo steady-state si può raggiungere in pochi minuti. L'emivita è di circa 8-20 ore. Nei bambini è generalmente più breve. A livello di interazioni, sostituisce la fenitoina nelle proteine plasmatiche e inibisce il metabolismo di diversi farmaci, quali il fenobarbitale, la fenitoina, la carbamazepina.

N° 003	06/2024
--------	---------

CARATTERISTICHE DEL KIT

PRINCIPIO DEL METODO

L'Acido Valproico viene estratto dal plasma dopo opportuna deproteinizzazione. A seguito di aggiunta di acqua di grado HPLC, la soluzione viene iniettata nel sistema cromatografico.

RECUPERO DEL METODO: 93%

SENSIBILITÀ DEL METODO (LLOD): 3,33 µg/ml

MINIMA CONCENTRAZIONE ANALIZZABILE (LLOQ): 10 µg/ml

LINEARITÀ: 10 – 1.000 µg/ml

VALORI DI RIFERIMENTO: 40 – 100 µg/ml

ACCURATEZZA INTRA SERIE (ERRORE RELATIVO %) :

Ci	Cs
25 µg/ml	100 µg/ml
13,74%	3,72%

ACCURATEZZA INTER SERIE (ERRORE RELATIVO %) :

Ci	Cs
25 µg/ml	100 µg/ml
8,06%	3,21%

RIPRODUCIBILITÀ INTRA SERIE (COEFFICIENTE DI VARIAZIONE %) :

C LLOQ	Cm	CA
10 µg/ml	50 µg/ml	200 µg/ml
7,06%	4,86%	2,19%

RIPRODUCIBILITÀ INTER SERIE (COEFFICIENTE DI VARIAZIONE %) :

C LLOQ	Cm	CA
10 µg/ml	50 µg/ml	200 µg/ml
9,32%	4,35%	2,86%

COEFFICIENTE DI CORRELAZIONE R² + DEV. STD: 0,9972 ± 0,0016

CONTENUTO DELLA CONFEZIONE

Reagente A - Soluzione Deproteinizzante con Standard Interno, **1 x 30 ml**

Reagente B - Soluzione Test, **1 x 5 ml**

Vedere Avvertenze

Calibratore liofilo plasmatico, 1 x 1 ml

Codice Z05116

(Confezionato a parte - vedi scheda tecnica)

Reagente M - Fase Mobile, **2 x 500 ml**

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

DOTAZIONE STRUMENTALE MINIMA RICHIESTA

Strumento HPLC isocratico con loop da 10 µl
Detector spettrofotometrico UV / VIS $\lambda=215$ nm
Registratore di cromatogrammi

DOTAZIONE OPZIONALE

Autocampionatore
Computer gestionale

MODALITÀ DI PRELIEVO EMATICO

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.

FASE PRE-ANALITICA

Se non si analizza subito, congelare il plasma a –20 °C. Stabile 1 mese.

PROCEDURA PREANALITICA

PREPARAZIONE DELLA SOLUZIONE TEST

In una provetta pipettare :

- 900 µl di H₂O di grado HPLC
- 100 µl di **Reagente B** - Soluzione Test

N.B.:

Per identificare il tempo di ritenzione dell'Acido Valproico 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.

Importante : Questo Test così ottenuto non deve essere usato come calibratore

PROCEDURA ANALITICA

FASE 1

PREPARAZIONE DEL CAMPIONE, DEL CALIBRATORE E DEI CONTROLLI

Dispensare in provetta:

	Calibratore	Controllo	Campione
Calibratore	100 µl		
Controllo		100 µl	
Campione			100 µl
Reagente A – Sol. Deproteinizzante con Standard Interno	300 µl	300 µl	300 µl

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

FASE 2

Centrifugare a 10.000 -14.000 rpm per 5 minuti

FASE 3

Prelevare 200 µl di sovranatante e aggiungere 200 µl di Acqua di grado HPLC

Al vortex per 10 secondi

N.B.: il campione così preparato è stabile 7 giorni a 2-8 °C

INIEZIONE

- Iniettare 10 µl del sovranatante limpido nel cromatografo HPLC e attendere la stampa del cromatogramma.

ACIDO VALPROICO PLASMATICO IN UV – Avvertenze

REAGENTE B: SOLUZIONE TEST

ACIDO VALPROICO	Circa 10.000 µg/ml
-----------------	--------------------

PARAMETRI DEL DETECTOR SPETTROFOTOMETRICO

λ	215 nm
GAIN	0,001 AUFS
TEMPO DI INTEGRAZIONE	10 secondi

PROTEZIONE DELLA COLONNA ANALITICA

Per salvaguardare la colonna analitica Poroshell 120 EC-C18 4,6 x 50 mm, 2,7 µ, è tassativo l'uso dei Prefiltri Javelin (1 x 10 pz.) cod. S90199511.
--

CONDIZIONAMENTO DELLA COLONNA

Installare la colonna analitica *nuova* Poroshell 120 EC-C18 4,6 x 50 mm, 2,7 µ. Disconnettere il detector spettrofotometrico e far passare 30 ml di una soluzione di **H₂O : Acetonitrile (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 : Acetonitrile (80 : 20 v / v)** al flusso di 1,0 ml/minuto. **Non riciclare i liquidi di lavaggio.** Al termine, iniettare il test chimico e verificare la congruità della separazione.

E' possibile effettuare analisi a ricircolo di fase, purchè si abbia l'accortezza di filtrare la stessa Fase Mobile con filtro da 0,22 µ prima di ogni seduta analitica. 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. Far fluire 15 ml di **H₂O : Acetonitrile (20 : 80 v / v)** al flusso di 1,0 ml/minuto e scaricare. Fluire una soluzione di **H₂O : Acetonitrile (70 : 30 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 (70 : 30 v / v)**

LAVAGGIO AGO DI INIEZIONE

Acqua / Etanolo o Metanolo o Acetonitrile (80 : 20 v/v).

PARAMETRI HPLC

LOOP	10 µl
Flusso di lavoro consigliato	1,0 ml/minuto
Pressione corrispondente	Circa 120 bar

ACCESSORI E CONSUMABILI

CODICE	DESCRIZIONE	CONFEZIONE
Z05116	Calibratore plasmatico per Acido Valproico	4 x 2 ml
Z05119	Controllo plasmatico per Acido Valproico – Livelli 1 e 2	2 x 5 x 2 ml
Z699975902	Colonna Analitica Poroshell 120 EC-C18 (50 x 4,6mm -2,7 um)	1 PZ
S90199511	Prefiltri Javelin	1 x 10 PZ
Z51843550	Vial di vetro a volume ridotto da 1,5 ml a 15 ul	1 x 100 PZ
Z51820717	Tappi per vial di vetro a volume ridotto da 1,5 ml a 15 ul	1 x 100 PZ

ACIDO VALPROICO PLASMATICO IN UV

(Cromatogrammi di riferimento)

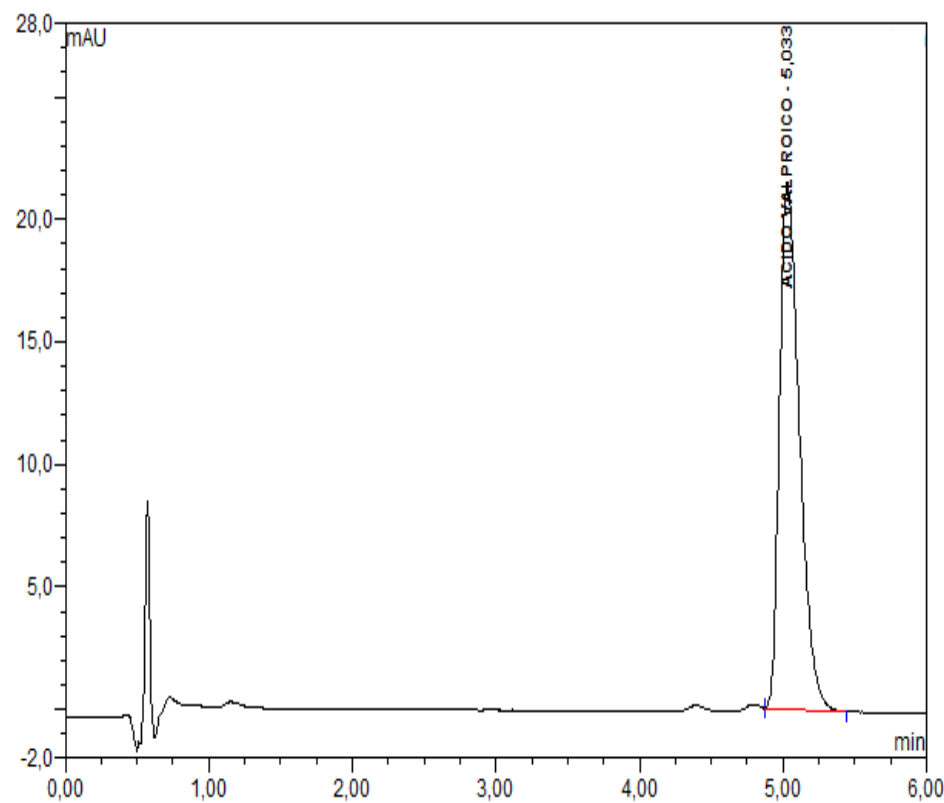


Fig. 1	Soluzione Test
	R.T. 5.0 Acido Valproico

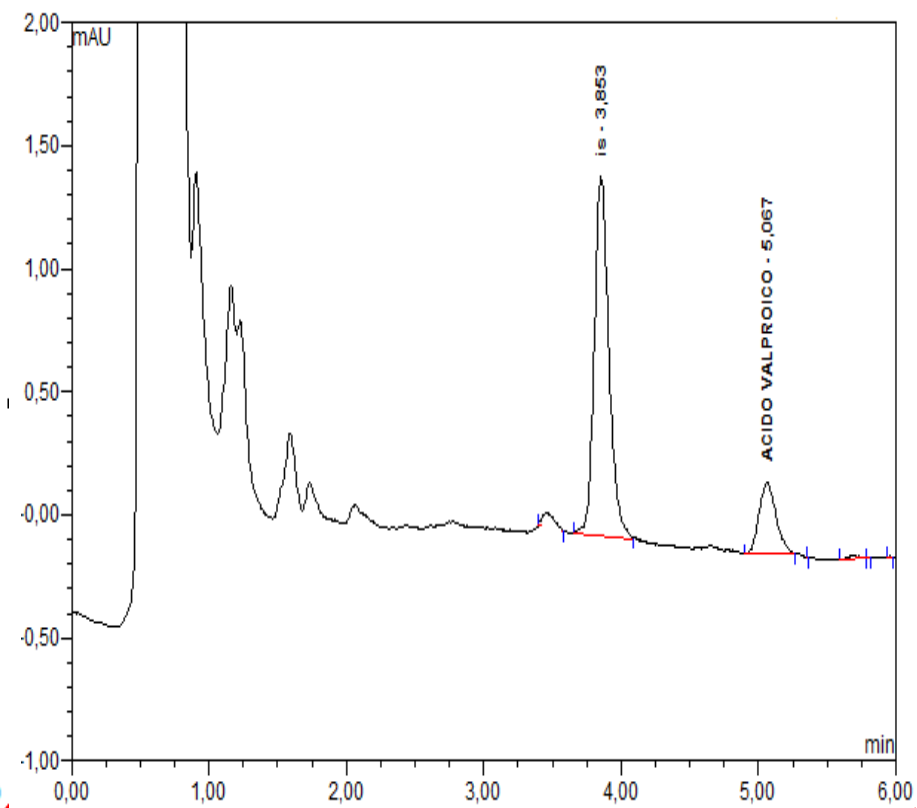


Fig. 2	Calibratore liofilo plasmatico
	R.T. 3.8 Standard Interno
	R.T. 5.0 Acido Valproico 125,9 µg/ml

ACIDO VALPROICO PLASMATICO IN UV

(Cromatogrammi di riferimento)

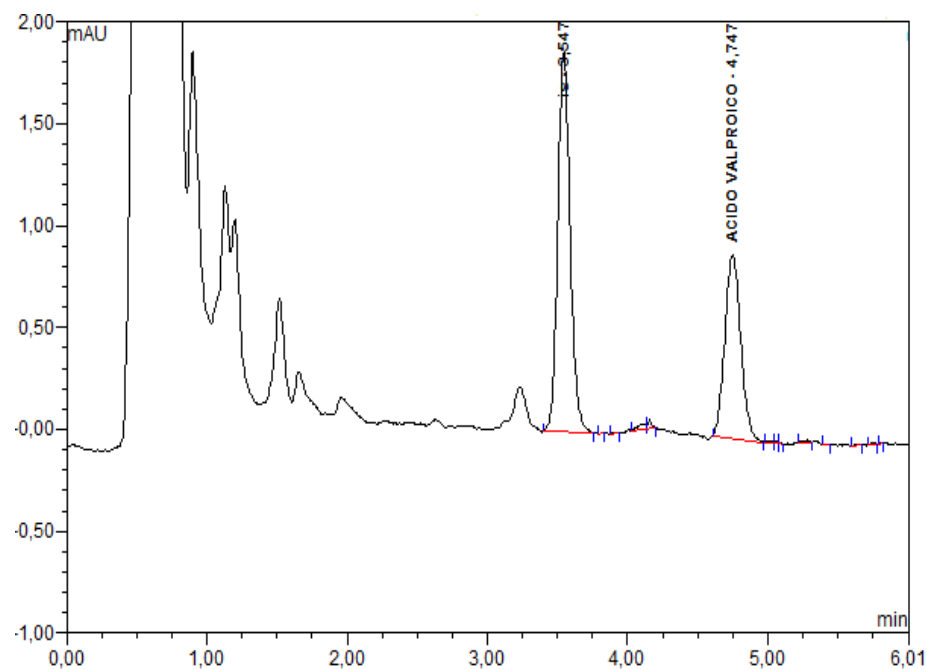


Fig. 3:	Controllo sierico alto			
	R.T.	3.54	Standard Interno	
	R.T.	4.74	Acido Valproico	233,8 µg/ml

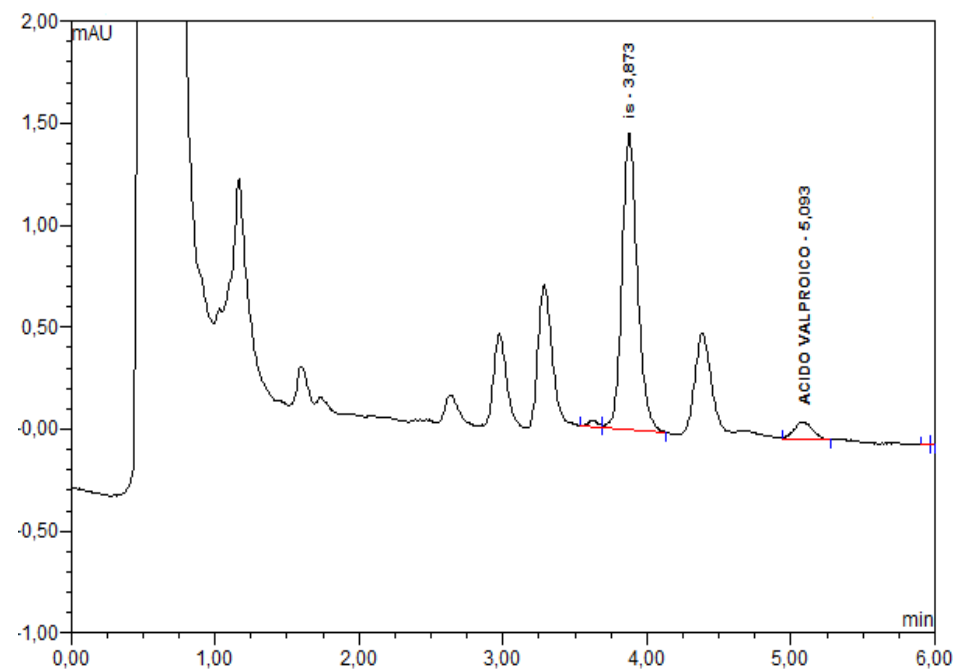


Fig. 4:	Campione di Acido Valproico			
	R.T.	3.87	Standard Interno	
	R.T.	5.09	Acido Valproico	24,46 µg/ml



EUREKA S.R.L. LAB DIVISION



60033 Chiaravalle (AN) - Italy
Tel +39 071 7450790
eureka-support@sentinel.it
www.eurekakit.com