ACIDO FENILGLIOSSILICO / ACIDO MANDELICO / ACIDO IPPURICO / ACIDI o-m-p-METILIPPURICI URINARI in UV – FAST – Codice Z06615

BIOCHIMICA

La determinazione dell'**Acido Fenilgliossilico (PGA)** e dell'**Acido Mandelico (MDA)** viene impiegata per il monitoraggio biologico dei soggetti esposti a **Stirene**.
Infatti lo **Stirene** viene trasformato dall'organismo dapprima in **Stirene-ossido,** quindi in **Feniletilenglicole** e successivamente in **Acido Fenilgliossilico** e **Acido Mandelico** (fig.1) i quali vengono eliminati immodificati.

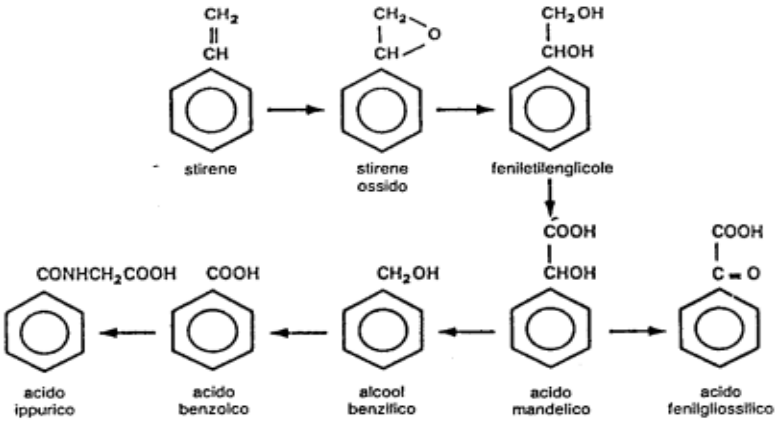


Fig. 1 : *Biotrasformazione dello stirene in vivo*

La determinazione dell'**Acido Ippurico (HPA)** urinario viene impiegata per il monitoraggio biologico dei soggetti esposti a **Toluene.**
Infatti il **Toluene** viene trasformato dall'organismo prevalentemente in **Acido Benzoico** il quale, dopo coniugazione con **Glicina**, viene eliminato con le urine come **Acido Ippurico.** (fig.2).

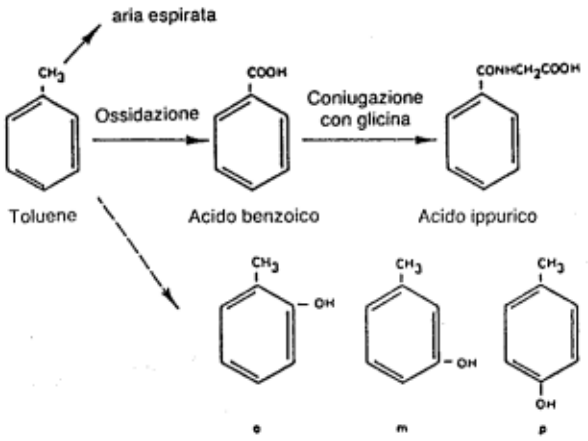


Fig. 2 : *Biotrasformazione del toluene in vivo*

La determinazione degli **Acidi o-m-p-MetilIppurici (m-MHPA, o-MHPA e p-MHPA)** viene impiegata per il monitoraggio biologico dei soggetti esposti a miscele di **o-m-p-Xilene**.
Infatti lo **Xilene**, presente nei formulati commerciali come miscela dei tre isomeri o-m-p, viene trasformato dall'organismo in miscela di **Acidi o-m-p-Metil-Benzoici** i quali, dopo coniugazione con la **Glicina**, vengono eliminati come miscela di **Acidi o-m-p-Metil-Ippurici** con le urine. (fig. 3)

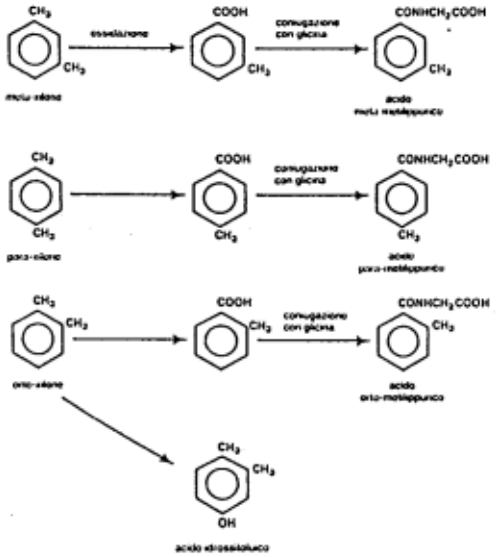


Fig. 3 : *Biotrasformazione dello Xilene in vivo*

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.

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

CARATTERISTICHE DEL METODO

Principio del Metodo:

L'Acido **Fenilgliossilico (PGA)**, l'Acido **Mandelico (MDA)**, l'Acido **Ippurico (HPA)** e gli Acidi **o-m-p-Metilippurici (m-MHPA, o-MHPA e p-MHPA)** vengono analizzati previa diluizione con una soluzione diluente. La soluzione così ottenuta viene iniettata direttamente in HPLC.

Recupero del Metodo : >98%

Sensibilità del Metodo (LLOD) :
1,5 mg/l Acido Fenigliossilico
3 mg/l Acido Mandelico
3 mg/l Acido Ippurico
1,5 m/l Acidi Metilippurici

Minima concentrazione analizzabile (LLOQ) :
5 mg/l Acido Fenigliossilico
10 mg/l Acido Mandelico
10 mg/l Acido Ippurico
5 mg/l Acidi Metilippurici

Linearità del Metodo :
5 – 3000 mg/l Acido Fenigliossilico
10 – 3000 mg/l Acido Mandelico
10 – 3000 mg/l Acido Ippurico
5 – 3000 mg/l Acidi Metilippurici

Accuratezza intra serie (errore relativo %) Acido Fenilgliossilico :

Ci	Cs
19,6 mg/l	244,5 mg/l
4,1%	4,56%

Accuratezza inter serie (errore relativo %) Acido Fenilgliossilico :

Ci	Cs
19,6 mg/l	244,5 mg/l
6,07%	5,47%

Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %) Acido Fenilgliossilico :

C LLOQ	Cm	CA
5 mg/l	97,8 mg/l	489 mg/l
4,96%	2,89%	2,25%

Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %) Acido Fenilgliossilico :

C LLOQ	Cm	CA
5 mg/l	97,8 mg/l	489 mg/l
8,59%	5,57%	2,73%

Coefficiente di correlazione R2 + Dev. Std: 0,9940 ± 0,0065 Acido Fenilgliossilico

Accuratezza intra serie (errore relativo %) Acido Mandelico :

Ci	Cs
44,4 mg/l	555,2 mg/l
16,88%	2,17%

Accuratezza inter serie (errore relativo %) Acido Mandelico :

Ci	Cs
44,4 mg/l	555,2 mg/l
17,01%	2,86%

Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %) Acido Mandelico :

C LLOQ	Cm	CA
10 mg/l	222,1 mg/l	1110,3 mg/l
4,64%	4,15%	3,14%

Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %) Acido Mandelico :

C LLOQ	Cm	CA
10 mg/l	222,1 mg/l	1110,3 mg/l
9,66%	5,22%	3,3%

Coefficiente di correlazione R2 + Dev. Std: 0,9953 ± 0,0049 Acido Mandelico

Accuratezza intra serie (errore relativo %) Acido Ippurico :

Ci	Cs
74,9mg/l	936,2 mg/l
3,18%	2,44%

Accuratezza inter serie (errore relativo %) Acido Ippurico :

Ci	Cs
74,9 mg/l	936,2 mg/l
4,32%	3,28%

Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %) Acido Ippurico :

C LLOQ	Cm	CA
10 mg/l	374,5 mg/l	1872,3 mg/l
1,75%	3,04%	2,6%

Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %) Acido Ippurico :

C LLOQ	Cm	CA
10 mg/l	374,5 mg/l	1872,3 mg/l
3,95%	4,28%	2,78%

Coefficiente di correlazione R2 + Dev. Std: 0,9986 ± 0,0011 Acido Ippurico

Accuratezza intra serie (errore relativo %) Acido o-Metilippurico:

Ci	Cs
26,8 mg/l	335,3 mg/l
3,24%	2,35%

Accuratezza inter serie (errore relativo %) Acido o-Metilippurico:

Ci	Cs
26,8 mg/l	335,3 mg/l
5,59%	7,95%

Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %) Acido o-Metilippurico:

C LLOQ	Cm	CA
5 mg/l	134,1 mg/l	670,6 mg/l
6,24%	2,75%	2,98%

Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %) Acido o-Metilippurico:

C LLOQ	Cm	CA
5 mg/l	134,1 mg/l	670,6 mg/l
8,36%	3,76%	3,06%

Coefficiente di correlazione R2 + Dev. Std: 0,9978 ± 0,0015 Acido o-Metilippurico

Accuratezza intra serie (errore relativo %) Acido m-Metilippurico :

Ci	Cs
27,5 mg/l	344,1 mg/l
7,2%	2,34%

Accuratezza inter serie (errore relativo %) Acido m-Metilippurico:

Ci	Cs
27,5 mg/l	344,1 mg/l
7,63%	3,22%

Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %) Acido m-Metilippurico:

C LLOQ	Cm	CA
5 mg/l	137,6 mg/l	688,2 mg/l
6,63%	2,01%	1,32%

Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %) Acido m-Metilippurico:

C LLOQ	Cm	CA
5 mg/l	137,6 mg/l	688,2 mg/l
8,65%	4,02%	2,85%

Coefficiente di correlazione R2 + Dev. Std: 0,9986 ± 0,0011 Acido m-Metilippurico

Accuratezza intra serie (errore relativo %) Acido p-Metilippurico:

Ci	Cs
28,1 mg/l	351,3 mg/l
8,04%	2,73%

Accuratezza inter serie (errore relativo %) Acido p-Metilippurico:

Ci	Cs
28,1 mg/l	351,3 mg/l
8,43%	3,48%

Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %) Acido p-Metilippurico:

C LLOQ	Cm	CA
5 mg/l	140,5 mg/l	702,6 mg/l
3,96%	2,17%	2,03%

Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %) Acido p-Metilippurico:

C LLOQ	Cm	CA
5 mg/l	140,5 mg/l	702,6 mg/l
4,73%	4,21%	2,79%

Coefficiente di correlazione R2 + Dev. Std: 0,9985 ± 0,0012 Acido p-Metilippurico

Valori accettabili in soggetti non esposti :

Ac. Fenilgliossilico: < 5 mg/l
Ac. Mandelico: < 5 mg/l
Ac. Ippurico: < 1500 mg/l
Ac. O-m-p- Metillppurici totali: < 1 mg/l

Valori accettabili in urine di fine turno :

Ac. Fenilgliossilico: < 264 mg/l
Ac. Mandelico: < 880 mg/l
Ac. Ippurico: < 1600 mg/l
Ac. O-m-p-Metillppurici totali: < 1500 mg/l
Riferimento: G Ital Med Lav Erg 2002;24:3 Suppl
Ac. O-m-p-Metillppurici totali : 1,5 g/g creatinina
Ac. Mandelico: 400 mg/g creatinina
Riferimento: ACGIH 2020

Contenuto della confezione (500 test) :

Tutti i reagenti sono pronti all'uso e stabili 3 anni a Temperatura Ambiente (≤ 20 °C). Il Calibratore è stabile 36 mesi a 2–8 °C.

Reagente A – Soluzione diluente, **5 x 100 ml**

Reagente C – Sol. Test, **1 x 2 ml**

Stoccare a 2-8 °C

Calibratore urinario liofilo, 5 x 5 ml

Codice Z06016
Confezionato a parte – vedi scheda tecnica

Dotazione strumentale minima richiesta :	Strumento HPLC isocratico con loop da 5 µl. Detector spettrofotometrico UV/VIS **λ=207 nm** Registratore di cromatogrammi
Modalità per il prelievo urinario:	All'inizio del turno lavorativo settimanale e alla fine del medesimo, è consigliato raccogliere 10 ml di urine in una provetta e inviarle al Laboratorio.
Fase preanalitica :	Centrifugare a 4000 rpm per 5 minuti. Stabile 4 settimane a 2- 8 °C o 6 mesi a – 20 °C.

PROCEDURA PREANALITICA

Preparazione della Soluzione Test.

In una vial pipettare:

- 990 µl di Acqua grado HPLC
- 10 µl di **Reagente C** – Sol. Test

INIEZIONE :

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

Verificare che la Sol. Test abbia tempi di ritenzione simili a quelli riportati in fig. 4. 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 : Preparazione dei campioni

In vials idonee dispensare in sequenza.

	Bianco	**Calibratore**	**Campione**
Reagente A – Sol. Diluente	1000 µl	1000 µl	1000 µl
Acqua di grado HPLC	10 µl		
Calibratore		10 µl	
Campione			10 µl

Al vortex per 10 secondi

N.B.: il campione così preparato è stabile 5 giorni a 2-8 °C

INIEZIONE :

- Iniettare 5 µl del sovranatante nel cromatografo HPLC

Acido FENILGLIOSSILICO / Acido MANDELICO / Acido IPPURICO / Acidi o-m-p-METILIPPURICI urinari in UV – Avvertenze

REAGENTE C : SOLUZIONE TEST

Acido Fenilgliossilico	Circa 1000 mg/l
Acido Mandelico	Circa 1000 mg/l
Acido Ippurico	Circa 1000 mg/l
Acido o-Metillppurico	Circa 1000 mg/l
Acido m-Metillppurico	Circa 500 mg/l
Acido p-Metillppurico	Circa 500 mg/l

PARAMETRI DEL DETECTOR SPETTROFOTOMETRICO

λ	207 nm
GAIN	0,01 AUFS
TEMPO DI INTEGRAZIONE	10 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 e far passare 30 ml di una soluzione di **H_2O : 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 **H_2O : 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, 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. Flussare 15 ml di **H_2O : Acetonitrile o Metanolo (80 : 20 v / v)** al flusso di 1,0 ml/minuto e scaricare. Flussare una soluzione di **H_2O : 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 **H_2O : 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

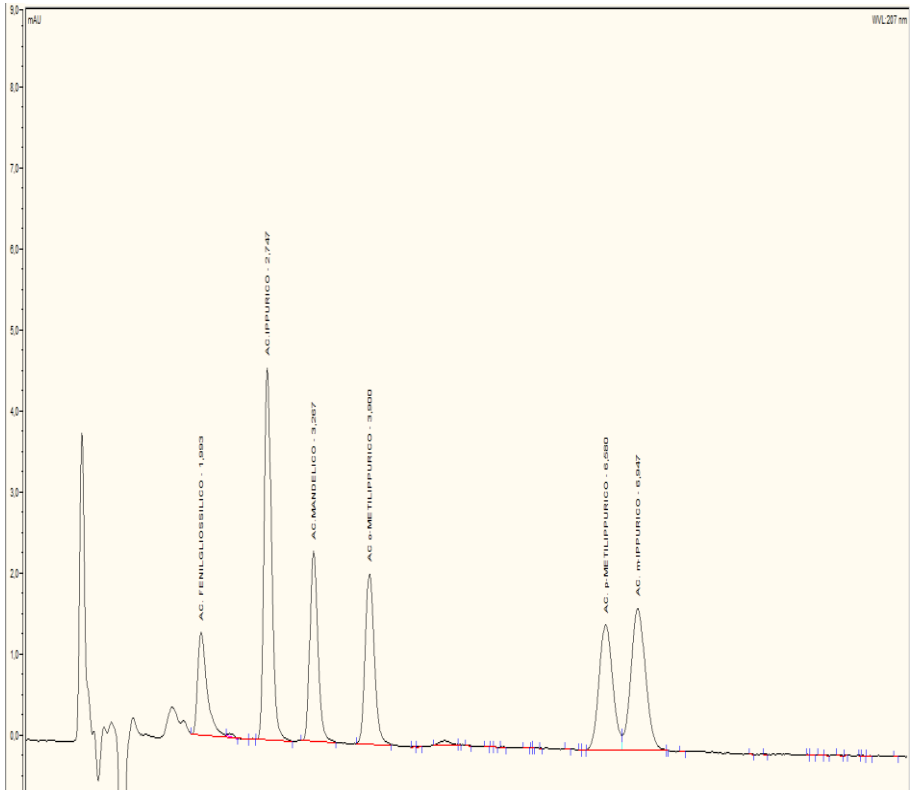
LOOP	5 µl
Flusso di lavoro consigliato	0,8 ml/minuto
Pressione corrispondente	Circa 110 bar

ACCESSORI E CONSUMABILI

CODICE	DESCRIZIONE	CONFEZIONE
Z06016	Calibratore multiparametrico per 6 parametri urinari	4 x 5 ml
Z38017	Controllo multiparametrico per metaboliti di composti tossici organici urinari-Livello 1	5 x 10 ml
Z38018	Controllo multiparametrico per metaboliti di composti tossici organici urinari-Livello 2	5 x 10 ml
Z38019	Controllo multiparametrico per metaboliti di composti tossici organici urinari-Livelli 1,2	2 x 5 x 10 ml
Z699975902	Colonna Analitica Poroshell 120-EC-C 18 (50 x 4,6mm –2,7 um)	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

Ac. FENILGLIOSSILICO, Ac. MANDELICO, Ac. IPPURICO e Acidi o-m-p-MetilIPPURICI urinari in UV

(Cromatogramma di riferimento)



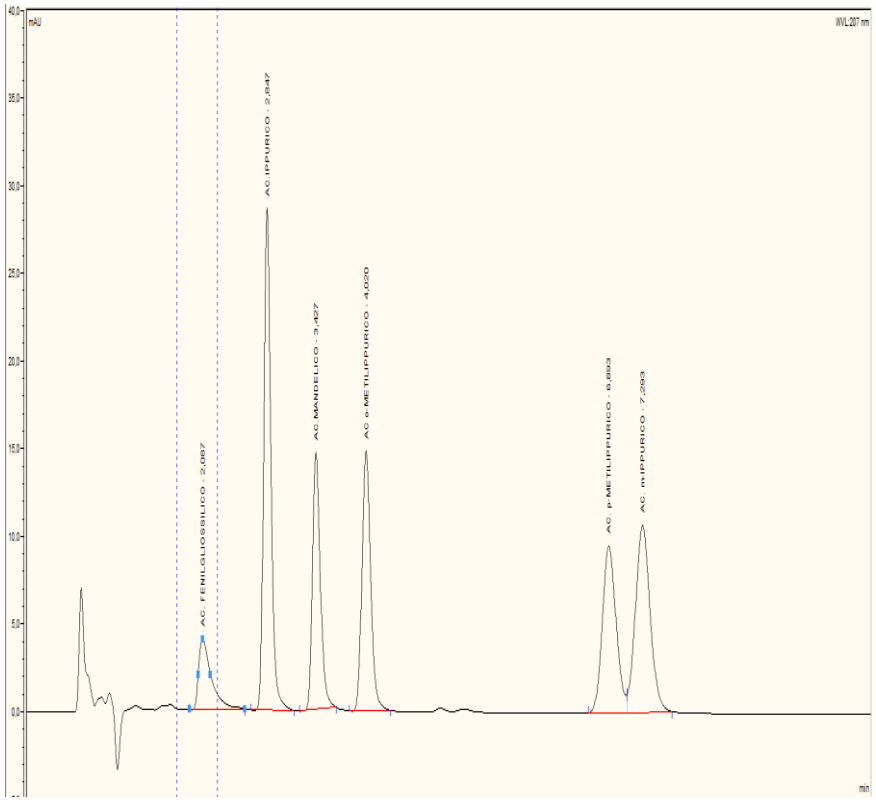
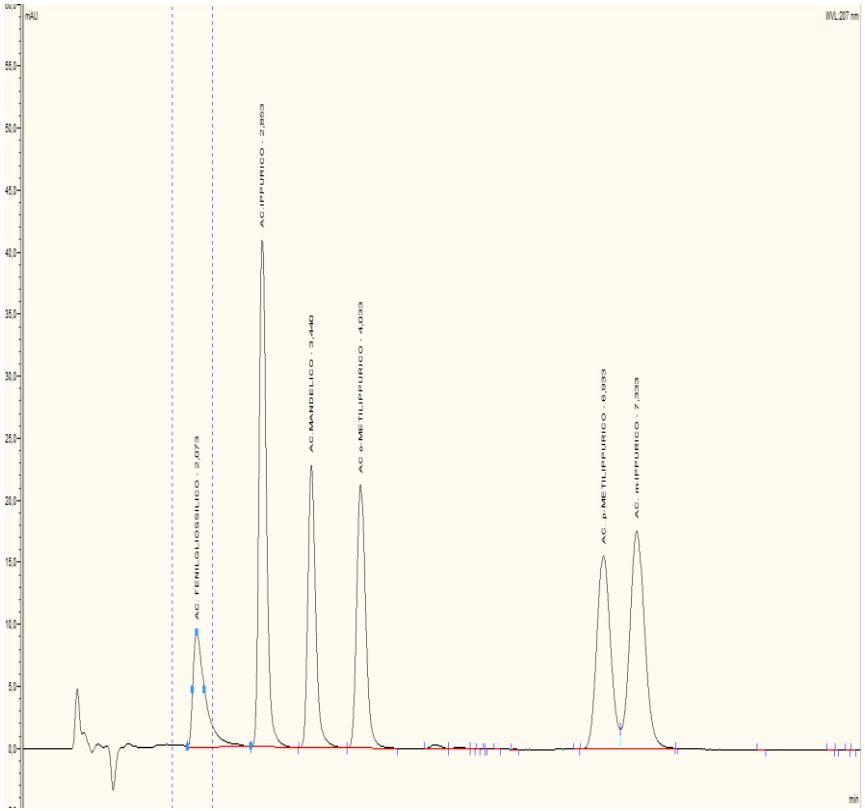


Fig. 3	***Soluzione Test***
	R.T. 1.99 Acido Fenilgliossilico
	R.T. 2.74 Acido Ippurico
	R.T. 3.26 Acido Mandelico
	R.T. 3.90 Acido o-Metilippurico
	R.T. 6.58 Acido p-Metilippurico
	R.T. 6.94 Acido m-Metilippurico

Fig. 4	***Calibratore liofilo urinario***	
	R.T. 2.08 Acido Fenilgliossilico	249,4 mg/l
	R.T. 2.84 Acido Ippurico	1.384,3 mg/l
	R.T. 3.42 Acido Mandelico	748,2 mg/l
	R.T. 4.02 Acido o-Metilippurico	429,3 mg/l
	R.T. 6.89 Acido p-Metilippurico	431,3 mg/l
	R.T. 7.29 Acido m-Metilippurico	424,3 mg/l

Ac. FENILGLIOSSILICO, Ac. MANDELICO, Ac. IPPURICO e Acidi o-m-p-MetilIPPURICI urinari in UV

(Cromatogramma di riferimento)



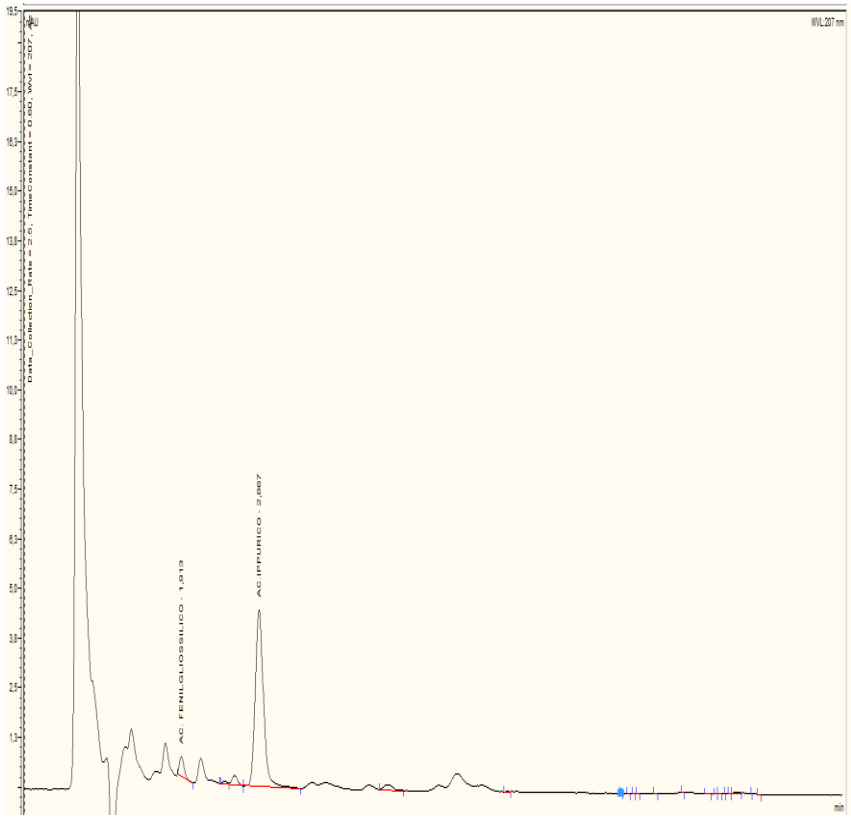


Fig. 5	***Controllo liofilo urinario livello 2***		
	R.T. 2.07	Acido Fenilgliossilico	489,0 mg/l
	R.T. 2.85	Acido Ippurico	1.872,3 mg/l
	R.T. 3.44	Acido Mandelico	1.110,3 mg/l
	R.T. 4.03	Acido o-Metilippurico	670,6 mg/l
	R.T. 6.93	Acido p-Metilippurico	702,6 mg/l
	R.T. 7.33	Acido m-Metilippurico	688,2 mg/l

Fig. 6	***Campione urinario***		
	R.T. 1.91	Acido Fenilgliossilico	500 mg/l
	R.T. 2.86	Acido Ippurico	500 mg/l

I