

CITRATI URINARI in UV - FAST – Codice Z32510

BIOCHIMICA

L'acido citrico è un acido organico. Tra gli inibitori urinari è ritenuto di particolare interesse in quanto la sua somministrazione induce un aumento del pH e del citrato urinario che possono essere facilmente misurabili e che possono correggere anomalie metaboliche responsabili della litogenesi. Infatti, grazie alla sua affinità per il calcio, ne abbassa la concentrazione ionica, diminuendo così la saturazione urinaria dei Sali di calcio.

Inoltre il citrato è un diretto inibitore della nucleazione del calcio ossalato e del calcio fosfato e dell'aggregazione del calcio ossalato. Infine, inducendo un'alcalinizzazione delle urine (pH 6-7), diventa anche un inibitore della calcolosi uratica, dal momento che a tali valori di pH la maggior parte dell'acido urico si trova in forma dissociata e quindi solubile. L'alcalinizzazione urinaria indotta dal citrato potrebbe aumentare non solo la solubilità dell'acido urico, ma anche della cistina.

La maggior parte degli Autori in letteratura è concorde nel definire come *Ipocitraturia* l'escrezione urinaria di citrato minore ai 320 mg/24 ore; può essere isolata o associata ad altre anomalie metaboliche. Nelle urine l'acido citrico blocca il processo di cristallizzazione del calcio. Quindi, una sua diminuzione nelle urine rispetto ai valori normali può essere un fattore di rischio per la formazione di calcoli, ovvero corpi solidi che si formano nelle vie urinarie o nei reni.

Sono state evidenziate differenze significative di citraturia in base al sesso e al regime alimentare. Infatti le maggiori escrezioni appartengono al sesso femminile a causa del tasso di estrogeni (questo spiegherebbe la minore incidenza di calcolosi nelle donne in età fertile) e ad una dieta con eccesso di proteine, di NaCl o digiuno prolungato.

Con questo metodo è possibile determinare la concentrazione dell'acido citrico nelle urine.

 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° 002	Citrati urinari in UV - FAST	07/2024
--------	------------------------------	---------

CARATTERISTICHE DEL METODO

Principio del Metodo:

I Citrati vengono dapprima diluiti con un reagente specifico. Indi subiscono la procedura di purificazione su colonne Clean up. La soluzione così ottenuta viene iniettata direttamente in HPLC.

Recupero del Metodo : 100%

Sensibilità del Metodo (LLOD) : 15 mg/l

Minima concentrazione analizzabile (LLOQ): 50 mg/l

Valori di riferimento : 320 –1260 mg/24h

Range dinamico del metodo : 50 – 20.000 mg/l

Accuratezza intra serie (errore relativo %):

Ci	Cs
100 mg/l	1000 mg/l
5,73%	7,37%

Accuratezza inter serie (errore relativo %):

Ci	Cs
100 mg/l	1000 mg/l
8,00%	8,42%

Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %):

C LLOQ	Cm	Cs
50 mg/l	500 mg/l	2000 mg/l
13,22%	1,69%	1,23%

Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %):

C LLOQ	Cm	Cs
50 mg/l	500 mg/l	2000 mg/l
14,15%	1,93%	1,44%

Coefficiente di correlazione R2 + Dev Std : 0,9970 ± 0,0013

<u>Contenuto della confezione :</u>	Tutti i reagenti sono pronti all'uso e stabili 3 anni a < 20 °C.
Reagente A – Soluzione di Condizionamento N° 1, 1 x 120 ml	
Reagente B – Soluzione di Condizionamento N° 2, 1 x 120 ml	
Reagente C – Soluzione di Condizionamento N° 3, 1 x 120 ml	
Reagente D – Soluzione Diluente, 1 x 120 ml	
Reagente E – Soluzione di Lavaggio N°1, 1 x 120 ml	
Reagente F - Soluzione di Lavaggio N°2, 1 x 120 ml	
Reagente G – Soluzione Eluente, 1 x 120 ml	
Reagente H – Soluzione Test, 1 x 10 ml	<u>Stoccare a 2-8 °C</u>
Reagente I – Soluzione Standard Interno, 1 x 15 ml	<u>Stoccare a 2-8 °C</u>
Calibratore urinario liofilo , 1 x 5 ml	<u>Codice Z32216</u>
Reagente K – Soluzione di Lavaggio ago di iniezione, 1 x 200 ml	<u>Confezionato a parte - vedi scheda tecnica</u>
Reagente M – Fase Mobile, 4 x 500 ml	
Colonne Clean-up , 100 pz	

Dotazione strumentale minima richiesta :

Strumento HPLC isocratico con loop da 50 µl.
Detector spettrofotometrico UV $\lambda=210$ nm

Dotazione opzionale :

Autocampionatore.
Computer gestionale

Modalità per il prelievo :

Urine delle 24 ore.

Fase preanalitica :

Campione stabile 2 giorni a 2-8 °C o 30 giorni a – 20 °C.

PROCEDURA PREANALITICA

In una provetta pipettare:

- 900 µl di H₂O di grado HPLC
- 50 µl di **Reagente H** - Soluzione Test
- 50 µl di **Reagente I** - Standard Interno

NOTA : Prima di iniziare la seduta analitica è consigliabile iniettare 50 µl di questa soluzione in HPLC per identificare il tempo di ritenzione del Citrato 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 : In provette di plastica da centrifuga da 10 ml dispensare in sequenza:

	Calibratore	Campione	Controlli
Calibratore	200 µl		
Campione		200 µl	
Controlli			200 µl
Reagente D – Soluzione Diluente	800 µl	800 µl	800 µl
Reagente I – Standard interno	50 µl	50 µl	50 µl

Al vortex per 10 secondi

FASE 2 : Condizionamento delle colonne di clean-up:

- Versare nelle colonne di clean-up 1,0 ml di **Reagente A – Sol.di Condizionamento 1**
Lentamente a circa 1 ml/min, non portare a secco. Scartare l'eluato
- Versare nelle colonne di clean-up 1,0 ml di **Reagente B – Sol. di Condizionamento 2**
Lentamente a circa 1 ml/min, non portare a secco. Scartare l'eluato
- Versare nelle colonne di clean-up 1,0 ml di **Reagente C – Sol. di Condizionamento 3**
Lentamente a circa 1 ml/min, non portare a secco. Scartare l'eluato

FASE 3 : Caricamento dei Campioni, Calibratore e Controlli nelle rispettive colonne di clean-up:

- Versare tutto il campione precedentemente preparato nelle colonne di clean-up
Lentamente a circa 1 ml/min, non portare a secco Scartare l'eluato.

FASE 4 : Lavaggio delle colonne di clean-up:

- Versare nelle colonne 1,0 ml di **Reagente E – Sol. di Lavaggio 1**
Portare a secco con un leggero flusso d'aria. Scartare l'eluato
- Versare nelle colonne 1,0 ml di **Reagente F – Sol. di Lavaggio 2**
Portare a secco con un leggero flusso d'aria. Scartare l'eluato

FASE 5 : Eluizione:

- Eluire con 1,0 ml di **Reagente G – Soluzione Eluente**
Lentamente a circa 1 ml/min. Portare a secco e raccogliere l'eluato

Al vortex per 10 secondi

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

FASE 6: Diluire l'eluato 1:5 con Acqua di grado HPLC

Al vortex per 10 secondi

INIEZIONE :

- Iniettare 50 µl della soluzione nel cromatografo HPLC ed attendere la stampa del cromatogramma

CITRATI URINARI – Avvertenze

REAGENTE H : SOLUZIONE TEST

Citrato	10.000 mg/l
---------	-------------

PARAMETRI DEL DETECTOR SPETTROFOTOMETRICO

λ	210 nm
GAIN	0,001 AUFS
TEMPO DI INTEGRAZIONE	10 secondi

CONDIZIONAMENTO DELLA COLONNA

Installare la colonna analitica nuova Colonna Analitica Hypersil Gold AQ 150 x 4,6 mm, 3 μ m, termostata a 55 °C. Disconnettere il detector e far passare H₂O grado HPLC, al flusso di 1 ml/minuto per 15 minuti. **Non riciclare i liquidi di lavaggio.** Filtrare la fase mobile con pompa da vuoto e filtro idoneo da 0,22 μ . Condizionare la colonna con la fase mobile al flusso di 1 ml/minuto per 30 minuti a termostato acceso. **NON è 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 H₂O di grado HPLC per 60 minuti ad un flusso di 1 ml/min a termostato acceso. A fine seduta far fluire H₂O di grado HPLC per 60 minuti ad un flusso di 1 ml/min (a termostato acceso o spento).

LAVAGGIO AGO CAMPIONATORE

Utilizzare il **Reagente K** – Soluzione di Lavaggio Ago di iniezione.

PARAMETRI HPLC

LOOP	50 μ l
Flusso di lavoro consigliato	1 ml/minuto
Pressione corrispondente	Circa 115 bar
Termostatazione colonna	55°C

ACCESSORI E CONSUMABILI

CODICE	DESCRIZIONE	CONFEZIONE
Z32216	Calibratore urinario per Citrati/Ossalati	4 x 5 ml
Z32219	Controllo urinario per Citrati/Ossalati – Livelli 1 e 2	2 x 5 x 5 ml
ZTF25303154630	Colonna Analitica Hypersil Gold AQ 150 x 4,6 mm, 3 μ m	1 PZ
S29057U	Vial standard di vetro da 2 ml con tappo a vite	1 x 100 PZ

CITRATI URINARI (Cromatogrammi di Riferimento)

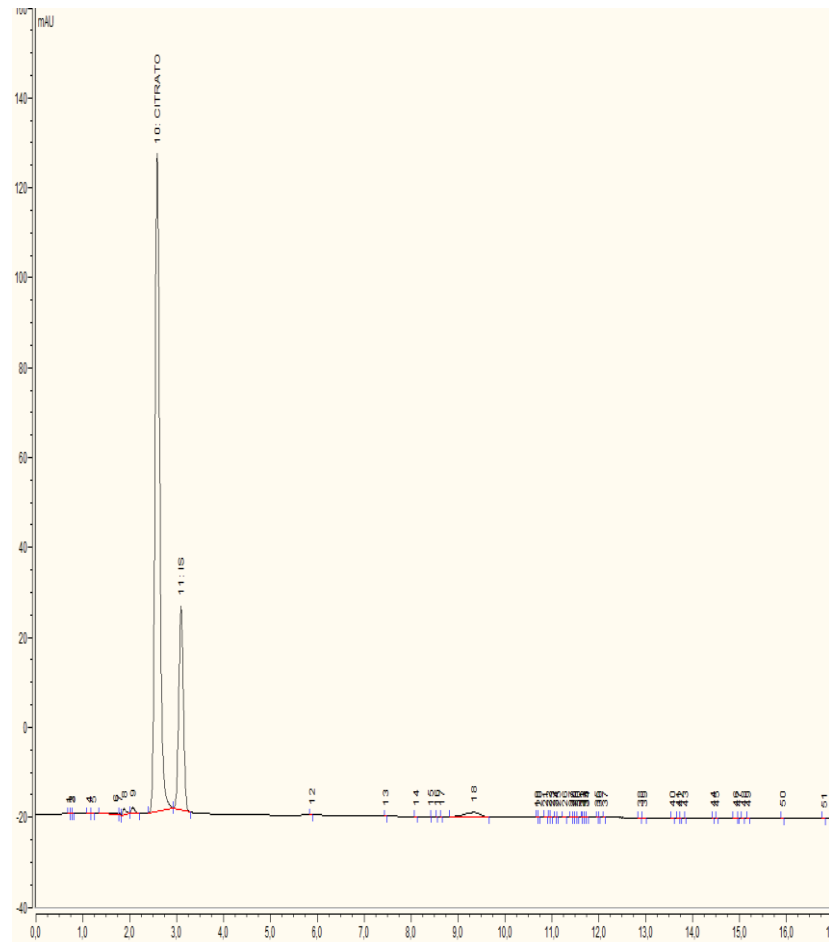


Fig. 1 :	Soluzione Test
	R.T. 2.7 Citrato
	R.T. 3.2 Standard Interno

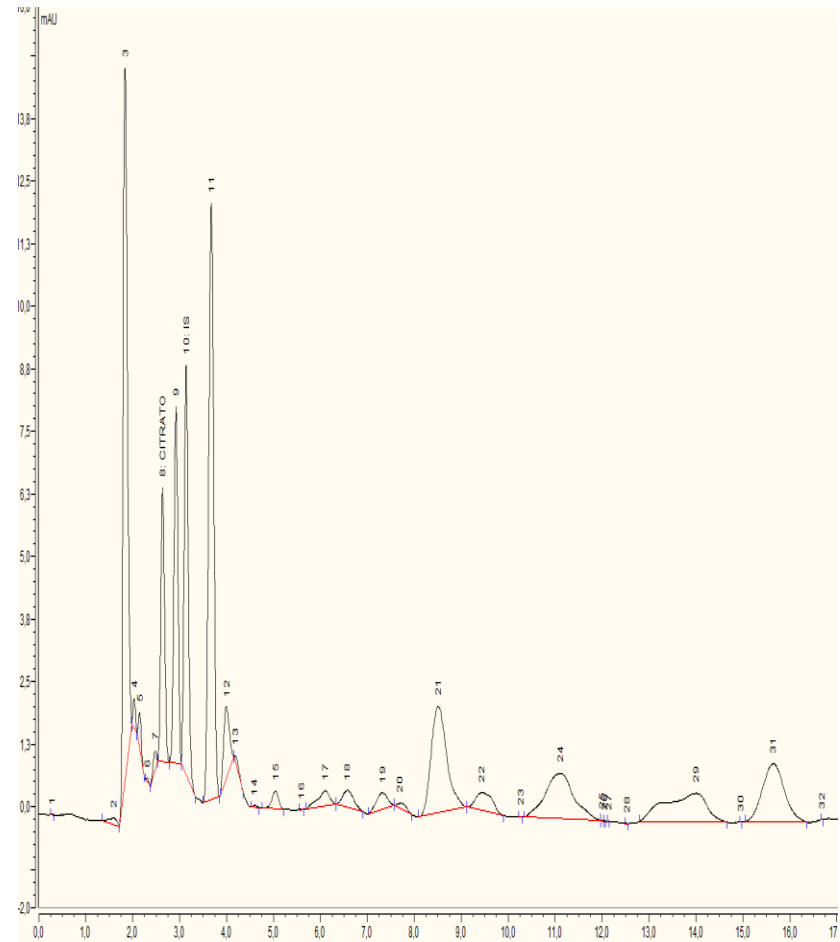


Fig. 2 :	Calibratore urinario
	R.T. 2.7 Citrato 350 mg/l
	R.T. 3.2 Standard Interno