

ACETONE URINARIO in UV - FAST – Codice Z42210

BIOCHIMICA

L' Acetone è un prodotto che rientra nella biochimica fisiologica: modeste quantità si formano come prodotto del metabolismo dei grassi e dei carboidrati. Oltre il 50% dell'Acetone assorbito dall'esterno per via inalatoria viene eliminato dall'organismo umano sotto forma di anidride carbonica.

Esistono condizioni predisponenti e scatenanti l'acetonuria quali: condizioni di affaticamento e stress fisico, ad esempio febbre alta, digiuno, sforzo fisico prolungato, assunzione di cibi troppo grassi che, provocando maggior dispendio energetico, costringono l'organismo a bruciare più in fretta tutti gli zuccheri a disposizione; per continuare a soddisfare le richieste e il proprio fabbisogno l'organismo inizia ad attingere alle riserve di grassi come fonte alternativa di energia; dal metabolismo di queste sostanze vengono prodotti i corpi chetonici che, se presenti in quantità superiori alla norma, sono difficili da smaltire e provocano i sintomi caratteristici del disturbo.

Uno dei corpi chetonici è l' Acetone che evapora con facilità e viene eliminato dall'organismo attraverso la respirazione e le urine; a contatto con l'aria l' Acetone sprigiona il caratteristico odore di frutta marcia.

Per risolvere il problema è necessario reintegrare gli zuccheri in modo da spostare le richieste energetiche verso il metabolismo dei carboidrati ed evitare di produrre altri corpi chetonici attraverso l'ulteriore metabolismo dei grassi.

Le concentrazioni urinarie di Acetone dovrebbero presentare valori non molto differenti da quelli ematici perché il coefficiente di ripartizione sangue/acqua dell'Acetone è prossimo a 1.

Wang e coll. hanno misurato un valore mediano pari a 454 µg/l (intervallo: 127-9350 µg/l) in 88 soggetti.

 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	Acetone urinario in UV - FAST	08/2024
--------	-------------------------------	---------

CARATTERISTICHE DEL METODO

Principio del Metodo:

L'Acetone contenuto nel campione urinario viene prima derivatizzato con un reagente selettivo e la soluzione ottenuta posta a incubare a 70 °C per 30 minuti. Dopo l'estrazione, un'aliquota di 10 µl viene iniettata direttamente in HPLC.

Recupero del Metodo :

102,6%
90,5% Recupero LLOQ
106,3% Recupero Cm
111,0% Recupero Ch

Sensibilità del Metodo (LLOD) :

0,033 mg/l

Minima concentrazione analizzabile (LLOQ) :

0,1 mg/l

Linearità :

0,1 - 100 mg/l

Accuratezza intra serie (errore relativo %):

Ci	Cs
0,5 mg/l	5 mg/l
5,49%	4,02%

Accuratezza inter serie (errore relativo %):

Ci	Cs
0,5 mg/l	5 mg/l
7,71%	3,58%

Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %):

C LLOQ	Cm	CA
0,1 mg/l	1 mg/l	10 mg/l
16,59%	5,32%	1,94%

Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %):

C LLOQ	Cm	CA
0,1 mg/l	1 mg/l	10 mg/l
17,66%	6,43%	7,08%

Coefficiente di correlazione R2 + Dev. std:

0,9995 ± 0,0002

Valori accettabili in urine di fine turno :

< 25 mg/l BEI

Riferimento: ACGIH 2020

Contenuto della confezione :

Tutti i reagenti sono pronti all'uso e stabili 3 anni a Temperatura Ambiente (≤ 20 °C)

Reagente A - Soluzione di Condizionamento 1, **1 x 50 ml**

Reagente E - Soluzione di Condizionamento 2, **1 x 50 ml**

Reagente B - Soluzione Derivatizzante, **1 x 50 ml**

Reagente C - Soluzione Stabilizzante, **1 x 100 ml**

Reagente D - Soluzione di Lavaggio, **1 x 100 ml**

Reagente F - Soluzione Eluente, **1 x 80 ml**

Reagente G - Standard Chimico / Sol. Test, **1 x 5 ml** **Stoccare a 2-8 °C**

Reagente H - Soluzione Standard interno, **1 x 20 ml** **Stoccare a 2-8 °C**

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

Colonne Clean-up, 100 pz

Dotazione strumentale minima richiesta :

Strumento HPLC isocratico con loop da 10 μ l
Detector spettrofotometrico UV/VIS $\lambda=365$ nm
Registratore di cromatogrammi

Dotazione opzionale :

Autocampionatore
Computer gestionale

Modalità per il prelievo urinario :

Alla fine del turno lavorativo, raccogliere 10 ml di urine
in una provetta idonea. Stabile 4 settimane a
-20 °C.

PROCEDURA PREANALITICA

Preparazione della Soluzione Test a 79,1 mg/l

In una provetta dispensare:

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

Si otterrà una Soluzione Test di 79,1 mg/l

In una provetta da 1,5 ml pipettare:

- 200 µl di **Sol. Test a 79,1 mg/l**
- 200 µl di **Reagente B - Sol. Derivatizzante**

Al vortex per 5 secondi

- Incubare a 70 °C per 30 minuti

Raffreddare

INIEZIONE :

- Iniettare 10 µl della soluzione nel cromatografo HPLC ed attendere la stampa del cromatogramma.

Verificare che la Sol. Test abbia un tempo di ritenzione 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 dello Standard Chimico di lavoro a 7,91 mg/l

In una provetta dispensare:

- 9,9 ml di H₂O di grado HPLC
- 100 µl di **Reagente G** - Standard Chimico

Si otterrà una Soluzione Standard contenente 7,91 mg/l

IMPORTANTE : Tale Soluzione Standard di lavoro va preparata di volta in volta.

FASE 2 : Preparazione dei Campioni

Dispensare in provette di vetro con tappo a vite e setto in teflon:

	Bianco	Standard Chimico	Campione
Acqua di grado HPLC	1,0 ml		
Standard chimico 7,91 mg/l		1,0 ml	
Campione Urinario			1,0 ml
Reagente H - Sol.Std interno	0,2 ml	0,2 ml	0,2 ml
Reagente B - Sol. Derivatizzante	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml

Chiudere bene le provette - Al vortex per 5 secondi

FASE 3 : Porre le provette in stufa a 70 °C per 30 minuti, lasciarle raffreddare fino a Temperatura Ambiente e quindi aggiungere 1 ml di **Reagente C** - Sol. Stabilizzante.

Al vortex per 5 secondi

FASE 4 : Condizionamento delle colonne clean-up

- Preparare tante colonne clean-up quanti sono gli Standards e i campioni da analizzare.
- Attivare le colonne clean-up con 0,5 ml di **Reagente A** - Sol. di Condizionamento 1 e gettare il percolato.

FASE 5 : Versare nelle colonne clean-up 0,5 ml di **Reagente E** - Sol. di Condizionamento 2 e gettare il percolato.

FASE 6 : Versare tutto il contenuto (2,7 ml) nelle colonne clean-up e gettare il percolato.

FASE 7 : Lavare le colonne clean-up con 1,0 ml di **Reagente D** - Sol. di Lavaggio e gettare il percolato

Portare a secco con un leggero flusso d'aria!

FASE 8 : Eluire con 0,8 ml di **Reagente F** - Sol. Eluente.

FASE 9 : Aggiungere 0,2 ml di acqua di grado HPLC all'eluato.

Al vortex per 5 secondi

N.B.: il campione così preparato è stabile 3 giorni a 2-8 °C

INIEZIONE :

- Iniettare 10 µl della soluzione nel cromatografo HPLC ed attendere la stampa del cromatogramma.

N.B.: Qualora il Bianco presentasse il picco dell'Acetone, procedere all'individuazione quantitativa per differenza tra le aree/altezze dei picchi dell'Acetone presenti nei Calibratori/Campioni/Controlli e nel bianco.

ACETONE - Avvertenze

REAGENTE G : STANDARD CHIMICO / SOLUZIONE TEST

ACETONE	791 mg/l
---------	----------

PARAMETRI DEL DETECTOR SPETTROFOTOMETRICO

λ	365 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 <u>nuova</u> POROSHELL 120 EC-C18 (50 x 4,6 mm, 2,7 μ). Disconnettere il detector 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, 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 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)
--

PARAMETRI HPLC

LOOP	10 μ l
Flusso di lavoro consigliato	1,2 ml/minuto
Pressione corrispondente	Circa 100 bar

ACCESSORI E CONSUMABILI

CODICE	DESCRIZIONE	CONFEZIONE
Z42020	Standard chimico per Acetone	2 x 5 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
S29057U	Vial standard di vetro da 2 ml con tappo a vite	1 x 100 PZ
Z1636/26	Provette in Pirex da 10 ml con Tappo SWL (per idrolisi, fino 300 °C)	1 x 40 PZ

ACETONE URINARIO

(Cromatogrammi di Riferimento)

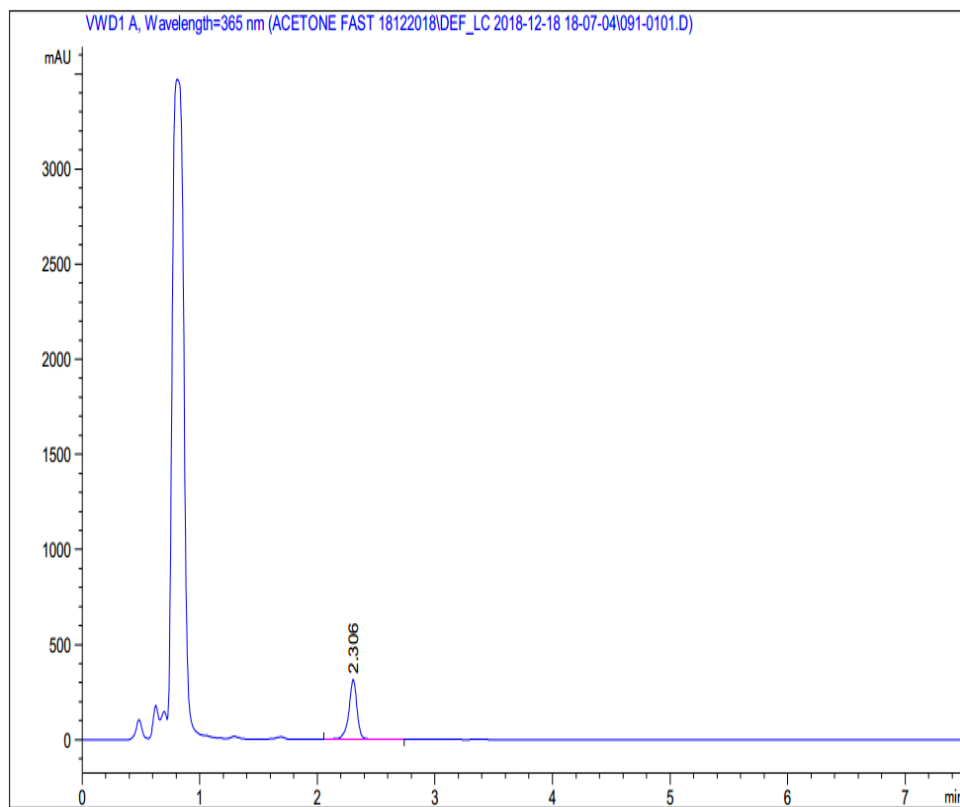


Fig. 1 :	Soluzione Test
	R.T. 2.306 Acetone

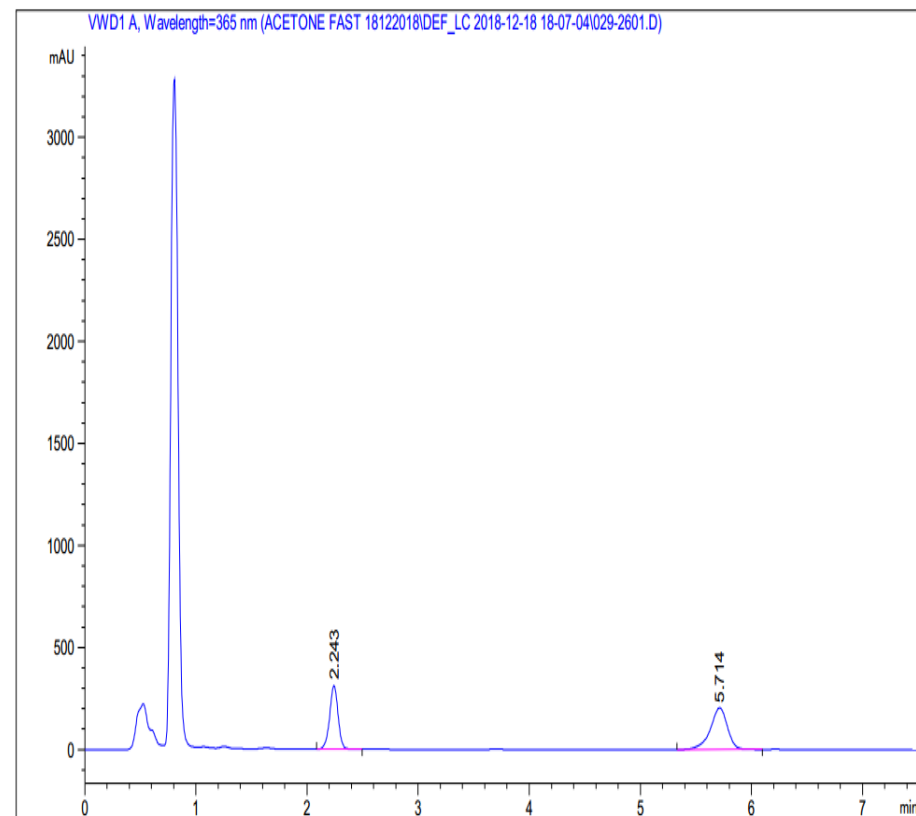


Fig. 2 :	Campione di urina arricchito
	R.T. 2.243 Acetone
	R.T. 5.714 Std Interno