

BIOCHIMICA

Il dosaggio dell'acido trans,trans-Muconico (t,t-MA) viene da tempo proposto come un marker biologico affidabile e sensibile per il monitoraggio dei lavoratori esposti al benzene.

Il benzene è una sostanza chimica frequentemente presente per es. negli oli minerali e si forma facilmente a seguito di processi di combustione. Esiste pertanto un rischio di inquinamento ambientale molto esteso. I suoi livelli nell'aria possono aumentare facilmente a causa delle emissioni da combustione di carbone e petrolio, da stoccaggio e perdita di benzene, dagli scarichi degli autoveicoli, per evaporazione dai distributori di benzina e inoltre dal momento che il tabacco contiene livelli elevati di benzene, il fumo di sigaretta è un'altra sorgente di benzene nell'aria.

L'esposizione acuta al benzene è causa di sonnolenza, vertigini, senso di stordimento, tachicardia, tremori, stato confusionale e di incoscienza e morte.

Le persone sottoposte a inalazioni di benzene per lunghi periodi (esposizione cronica) possono presentare effetti nocivi di vario genere. E' stato Infatti dimostrato che il benzene ha effetti tossici sul processo di eritropoiesi ed è stato identificato anche come cancerogeno, può portare all'anemia, sanguinamento ed ha effetti dannosi sul sistema immunitario e sugli apparati riproduttivi.

Per quanto riguarda l'effetto cancerogeno, secondo l'Istituto Superiore di Sanità Americano (DHHS) il benzene è conosciuto come un cancerogeno umano. Esposizioni di lungo periodo a relativamente alti livelli di benzene nell'aria causano leucemia e pertanto è importante sottoporre le persone esposte a monitoraggio e controllo periodico del benzene.

Il benzene viene primariamente metabolizzato dal citocromo P-450 a composti fenolici. Il range di conversione metabolica del benzene all'Acido trans-trans-Muconico va dal 2 al 25% e dipende dai livelli di esposizione al benzene. Una volta ossidati, i metaboliti del benzene giocano un ruolo sostanziale nel determinare la tossicità del benzene inducendo o alcalinizzazione del DNA o stress ossidativi i quali determinano i disordini sistemici sopracitati.

 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



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.

N° 006	Acido t,t-Muconico urinario in UV - FAST	07/2024
--------	--	---------

CARATTERISTICHE DEL KIT

Principio del Metodo :

L' Acido *trans,trans Muconico* viene diluito con un opportuno reagente e, dopo purificazione in colonna clean-up, viene analizzato in HPLC.

Recupero del Metodo :

92 %

Sensibilità Analitica (LLOD): :

6,66 µg/l

Minima Concentrazione analizzabile (LLOQ):

20 µg/l

Linearità:

20 – 10.000 µg/l

Accuratezza intra serie (errore relativo %) :

Ci	Cs
200 µg/l	800 µg/l
1,97%	1,51%

Accuratezza inter serie (errore relativo %) :

Ci	Cs
200 µg/l	800 µg/l
5,38%	3,07%

Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %) :

C LLOQ	Cm	Cs
20 µg/l	400 µg/l	1200 µg/l
5,76%	2,83%	2,02%

Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %) :

C LLOQ	Cm	Cs
20 µg/l	400 µg/l	1200 µg/l
6,41%	4,05%	2,28%

Coefficiente di correlazione R2 + Dev Std

0,9973 ± 0,0012

Indice Biologico di Esposizione – I.B.E.

500 µg/g creatinina
ACGIH 2020

Interferenze metaboliche :

Acido Sorbico: circa lo 0,12% dell'acido Sorbico ingerito con il cibo viene trasformato in t,t,-MA.

Contenuto della confezione :

Reagente A – Soluzione Diluente, **1 x 100 ml**

Reagente B – Soluzione di Lavaggio 1, **1 x 200 ml**

Reagente C – Soluzione di Lavaggio 2, **1 x 100 ml**

Reagente D – Soluzione Eluente, **1 x 100 ml**

Reagente E – Soluzione Test, **1 x 2 ml**

Reagente F – Standard Interno, **1 x 1 ml**

Calibratore liofilo, **1 x 5 ml**

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

Colonne clean-up, **100 Pz**

Tutti i reagenti sono pronti all'uso e stabili 3 anni a Temperatura Ambiente (≤ 20 °C) eccetto i **Reagenti E ed F**.

Stoccare a 2-8 °C

Stoccare a 2-8 °C

Codice Z23016

Confezionato a parte - vedi scheda tecnica

Dotazione strumentale minima richiesta :

Strumento HPLC isocratico con loop da 20 µl
Detector Spettrofotometro UV/VIS $\lambda = 264 \text{ nm}$
Registratore di cromatogrammi

Dotazione opzionale :

Autocampionatore.
Computer gestionale

Modalità di raccolta delle urine :

Rif. Bibliografico= Italian Journal of Occupational and Environmental Hygiene - Suppl. Vol. 3, n.1 - 2012

Urine di fine turno. Congelare il campione a –20 °C se l'analisi deve essere differita. Si mantiene stabile per oltre 4 settimane.

PROCEDURA PREANALITICA

Preparazione della Soluzione Test a 560 µg/l

In una provetta pipettare :

- 900 µl di Acqua grado HPLC
- 100 µl di **Reagente E – Sol. Test**
- 10 µl di **Reagente F – Sol. Standard Interno** (dopo diluizione come da sottostante FASE 1)

INIEZIONE :

- Iniettare 20 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. 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 :** Questa Soluzione così ottenuta non deve essere usata come calibratore

PROCEDURA ANALITICA

FASE 1 : Diluizione Standard Interno

Diluire il **Reagente F – Standard Interno** 1:25 con Acqua, preparando il volume sufficiente per coprire i campioni della seduta analitica

FASE 2 : Preparazione dei Campioni, del Calibratore e dei Controlli

Controllare che il pH dei campioni urinari sia maggiore di 5.

Dispensare in provetta :

	Calibratore	Campione	Controlli
Calibratore	200 µl		
Campione		200 µl	
Controlli			200 µl
Reagente A – Sol. diluente	800 µl	800 µl	800 µl
Reagente F – Sol. Standard Interno	100 µl	100 µl	100 µl

Agitare al vortex per 10 secondi

FASE 3 : Caricamento del Campione

- Versare tutto il campione precedentemente preparato nelle colonne Clean-up in due dispensazioni successive e lasciar percolare tutto il liquido di ogni colonna Clean-up, anche con l'ausilio di un vuoto moderato, alla velocità di circa 1 ml/minuto (goccia a goccia).

FASE 4 : Lavaggio

- Lavare con 2 ml di **Reagente B** – Sol. di lavaggio 1 IN DUE PASSAGGI SUCCESSIVI
Portare a secco anche con l'ausilio di un vuoto moderato Scartare l'eluato
- Lavare con 1 ml di **Reagente C** – Sol. di lavaggio 2 *Portare a secco anche con l'ausilio di un vuoto moderato Scartare l'eluato*

FASE 5 : Eluizione

- Eluire con 1,0 ml di **Reagente D** – Sol. eluente *Portare a secco anche con l'ausilio di un vuoto moderato*

Al vortex per 10 secondi

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

INIEZIONE :

- Iniettare 20 µl della soluzione nel Cromatografo e attendere la stampa del cromatogramma.

ACIDO trans,trans MUCONICO URINARIO - FAST – Avvertenze

REAGENTE E : SOLUZIONE TEST

Ac. trans,trans MUCONICO	5.600 µg/l
--------------------------	------------

PARAMETRI DEL DETECTOR SPETTROFOTOMETRICO

λ	264 nm
GAIN	0,001 AUFS
TEMPO DI INTEGRAZIONE	10 secondi

PROTEZIONE DELLA COLONNA ANALITICA

Per salvaguardare il sistema completo ZORBAX ECLIPSE PLUS C18 (100 x 4,6 mm, 3,5 µ) è tassativo l'uso del Prefiltri Javelin (1 x 10 pz), cod. S90199511.
--

CONDIZIONAMENTO DELLA COLONNA

Installare la colonna analitica <u>nuova</u> ZORBAX ECLIPSE PLUS C18 (100 x 4,6 mm, 3,5 µ). Disconnettere il detector 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. Condizionare la colonna con la fase mobile al flusso di 1,0 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. Il segnale che la fase mobile deve essere cambiata è dato dal significativo innalzamento del rumore di fondo del detector. 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 (20 : 80 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 (20 : 80 v / v)
--

LAVAGGIO AGO INIEZIONE

Lavare con una soluzione di Acqua / Etanolo o Metanolo o Acetonitrile (80 : 20 v/v).
--

PARAMETRI HPLC

LOOP	20 µl
Flusso di lavoro consigliato	1,5 ml/minuto
Pressione corrispondente	Circa 115 bar

ACCESSORI E CONSUMABILI

CODICE	DESCRIZIONE	CONFEZIONE
Z23016	Calibratore per Acido t,t-Muconico urinario	4 x 5 ml
Z38019	Controllo multiparametrico per metaboliti di composti tossici organici-Livelli 1 e 2	2 x 5 x 10 ml
Z959961902	Colonna Analitica Zorbax Eclipse Plus C 18 (100 x 4,6 mm, 3,5 µ)	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

ACIDO t,t-MUCONICO

(Cromatogrammi di riferimento)

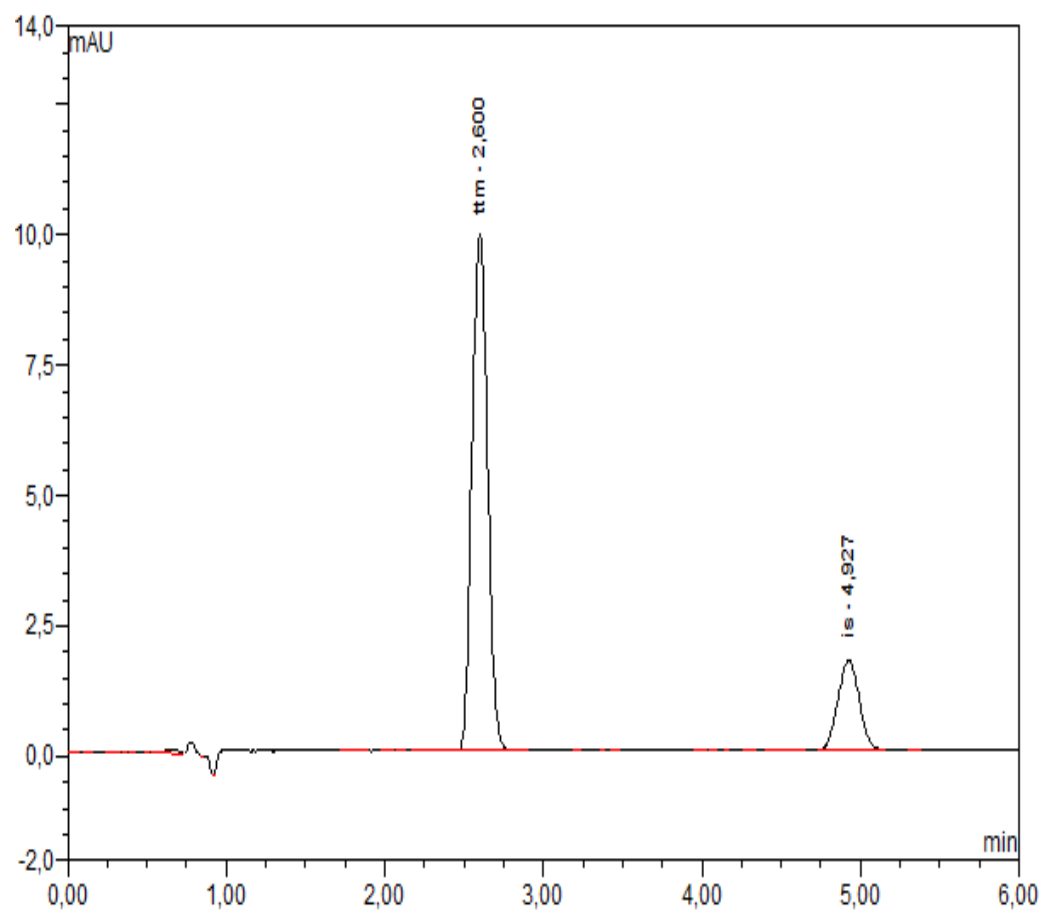


Fig. 1	Soluzione Test
	R.T. 2.60 Ac. t,t-Muconico
	R.T. 4.92 Standard Interno

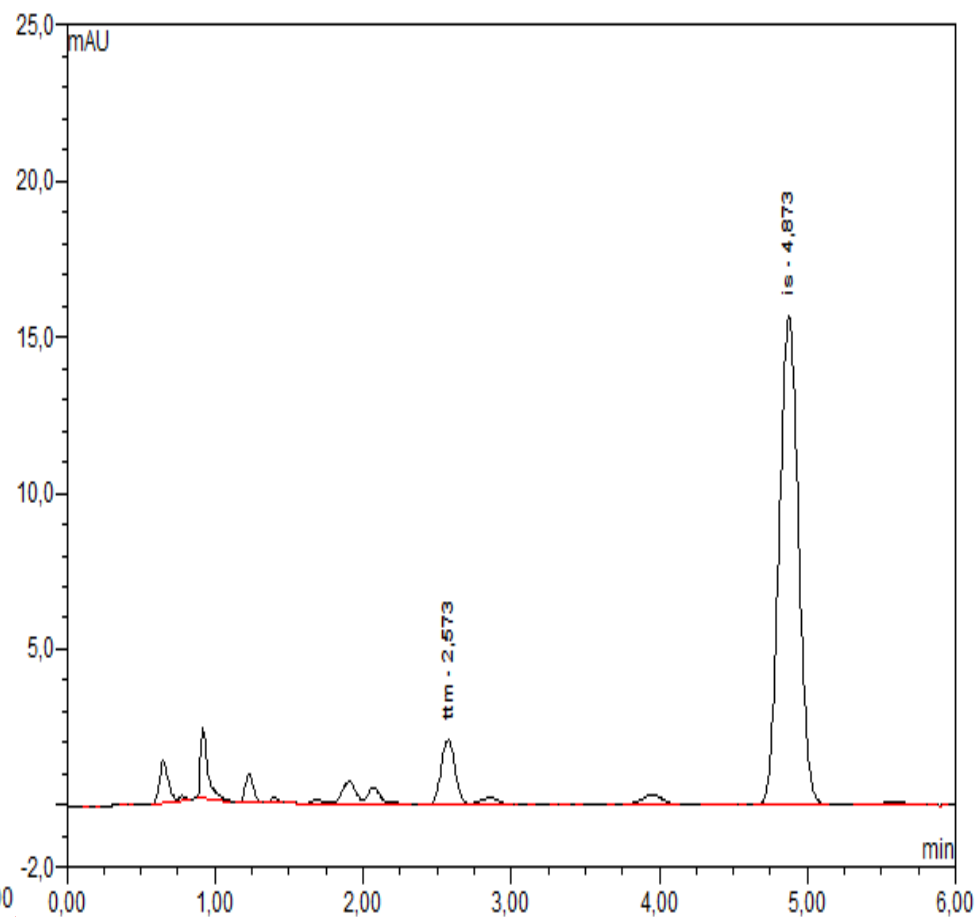


Fig. 2	Calibratore liofilo urinario
	R.T. 2.57 Ac. t,t-Muconico 660 µg/l
	R.T. 4.87 Standard Interno

ACIDO t,t-MUCONICO
(Cromatogrammi di riferimento)

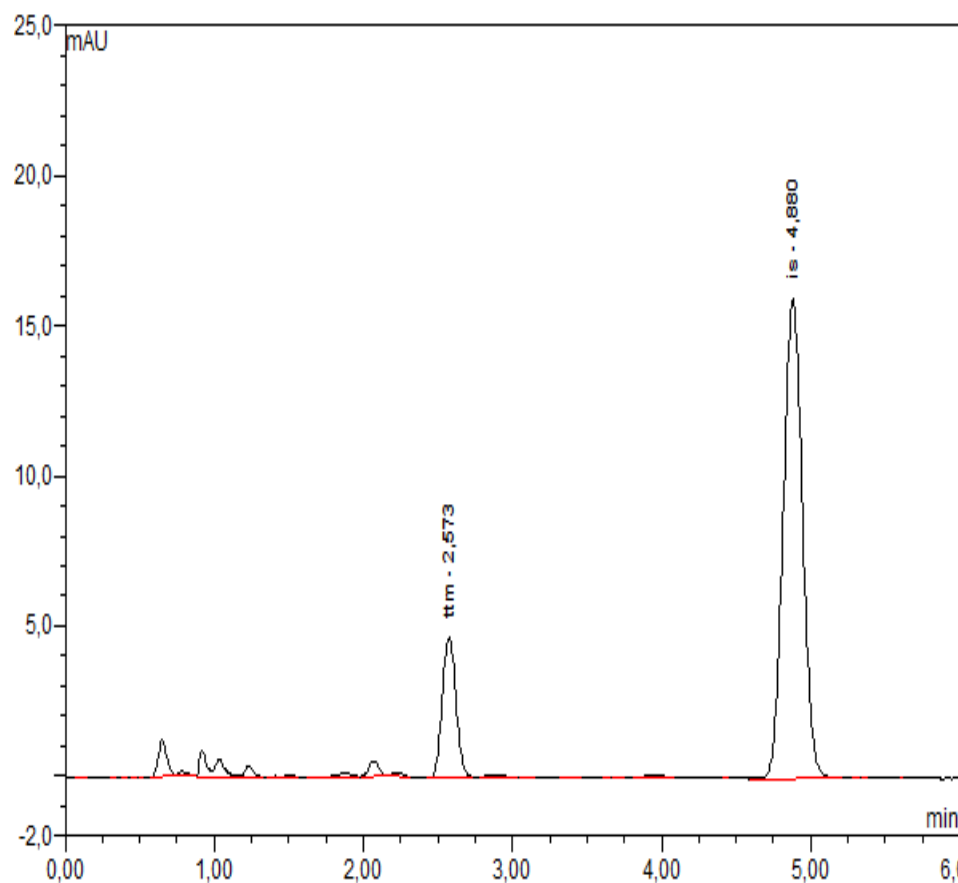


Fig. 3	Controllo liofilo urinario livello 2
	R.T. 2.57 Ac. t,t-Muconico 1635,4 µg/l
	R.T. 4.88 Standard Interno

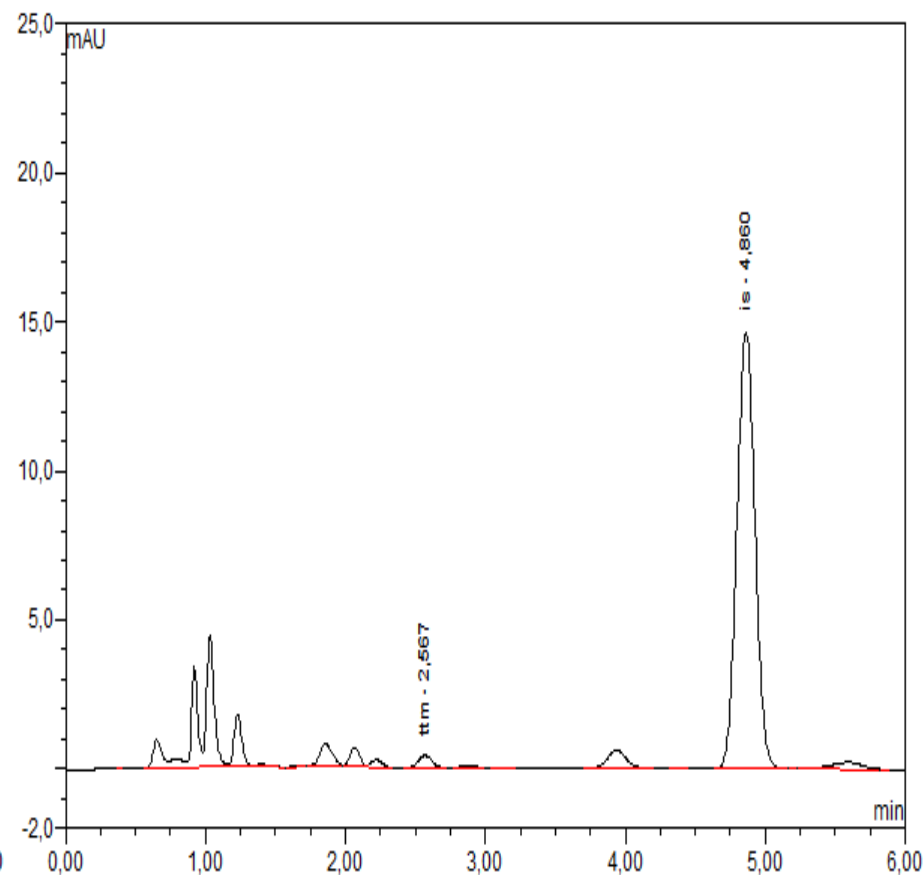


Fig. 4	Campione urinario non patologico
	R.T. 2.56 Ac. t,t-Muconico 143,2 µg/l
	R.T. 4.86 Standard Interno