

3-NITROTIROSINA PLASMATICA IN UV/VIS - FAST– Codice Z61010

BIOCHIMICA

La 3-nitrotirosina è un prodotto della nitrificazione della tirosina mediata attraverso specie azotate reattive come l'anione perossinitrito e il diossido di azoto. Viene riscontrata in numerose condizioni patologiche ed è considerata come un marker di stress ossidativo dipendente da NO. La nitrotirosina viene trovata in molti tessuti affetti da patologie, come la cornea e il cheratocono. Molto probabilmente partecipa nel processo di patogenesi del diabete.

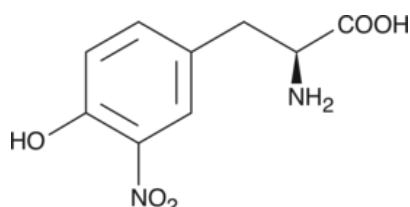


Fig. 1 3-Nitrotirosina

Viene quindi identificata come indicatore di danneggiamento e infiammazione cellulare, così come indice di produzione di NO. Si pensa che misurare la concentrazione di nitrotirosina serva ad avere un marker per il danneggiamento causato dagli NO nella cellula. Studi precedenti hanno dimostrato che la nitrotirosina è stata trovata in condizioni infiammatorie, come placche aterosclerotiche e artriti reumatoidi.

 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° 007	3-Nitrotirosina plasmatica - FAST	10/2024
--------	-----------------------------------	---------

CARATTERISTICHE DEL KIT

Principio del metodo :

Il presente metodo consente di determinare le concentrazioni plasmatiche della **3-Nitrotirosina**.
Ad una aliquota di plasma viene aggiunto un Reagente di Precipitazione e, dopo aggiunta di un riducente, il campione viene trasferito in provetta e iniettato in HPLC.

Recupero del Metodo : >98%

Sensibilità analitica (LLOD): 30 µg/L

Minima concentrazione analizzabile (LLOQ) : 50 µg/L

Linearità : 50 – 7.500 µg/L

Valori di riferimento : 50 – 100 µg/L

Accuratezza intra serie (errore relativo %):

Ci	Cs
80 µg/L	500 µg/L
11,7%	1,1%

Accuratezza inter serie (errore relativo %):

Ci	Cs
80 µg/L	500 µg/L
13,1%	3,5%

Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %):

CI	Cm	Cs
50 µg/L	250 µg/L	1000 µg/L
14,7%	4,2%	3,0%

Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %):

CI	Cm	Cs
50 µg/L	250 µg/L	1000 µg/L
15,0%	11,3%	6,7%

Coefficiente di correlazione R² + Dev Std 0,9963 ± 0,0011

Contenuto della Confezione :

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

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

Calibratore liofilo plasmatico, 5 x 1 ml

Codice Z61016

Confezionato a parte - vedi scheda tecnica

Reagente C – Soluzione Test, **1 x 5 ml**

Vedi Avvertenze

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

Dotazione strumentale minima richiesta :

Strumento HPLC isocratico con loop da 10 µl
Detector spettrofotometrico UV/VIS $\lambda = 232 \text{ nm}$

Modalità di prelievo ematico :

Prelevare 3 ml di sangue in una provetta con anticoagulante citrato.

Fase pre-analitica :

Se non si analizza subito, congelare il campione a -20 °C. Stabile per circa 3 mesi.

PROCEDURA PREANALITICA

In una provetta pipettare :

- 280 µl di **Reagente A** – Deproteinizzante con Standard Interno
- 200 µl di **H₂O di grado HPLC**
- 200 µl di **Reagente C** – Sol. Test

Agitare al Vortex per 10 secondi

INIEZIONE :

- Iniettare 10 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 : Preparazione dei campioni

Dispensare in provetta:

	Calibratore	Campione
Calibratore	200 µl	
Campione		200 µl
Reagente A – Sol. Deproteinizzante con Standard Interno	280 µl	280 µl

Attenzione: si consiglia di deproteinizzare direttamente sul Vortex per almeno 30 secondi

Centrifugare a 10000 rpm per 10 min

FASE 2 : Prelevare tutto il surnatante

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

INIEZIONE :

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

3-NITROTIROSINA PLASMATICA - FAST – Avvertenze

REAGENTE C : SOLUZIONE TEST

3-Nitrotirosina	Circa 1000 µg/L
------------------------	-----------------

PARAMETRI DEL DETECTOR SPETTROFOTOMETRICO

λ	232 nm
GAIN	0,001 AUFS

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 <i>nuova</i> POROSHELL 120 EC-C18 (50 x 4,6 mm, 2,7 µ). Disconnettere il detector 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. Condizionare ulteriori 30 minuti a ricircolo di fase. Al termine, iniettare il test chimico e verificare la congruità della separazione. E' 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 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)
--

LAVAGGIO AGO INIEZIONE

Lavare con una soluzione di 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
Z61016	Calibratore per 3-Nitrotirosina plasmatica	4 x 1 ml
Z61019	Controllo per 3-Nitrotirosina plasmatica – Livelli 1 e 2	2 x 5 x 1 ml
Z699975902	Colonna Analitica Poroshell 120, EC-C18 (50 x 4,6 mm - 2,7 µm)	1 PZ
S90199511	Prefiltri Javelin	1 x 10 PZ
Z51843550	Vial di vetro a volume ridotto da 1,5 ml a 15 µl	1 x 100 PZ
Z51820717	Tappi per vial di vetro a volume ridotto da 1,5 ml a 15 µl	1 x 100 PZ

3-NITROTIROSINA PLASMATICA (Cromatogrammi di riferimento)

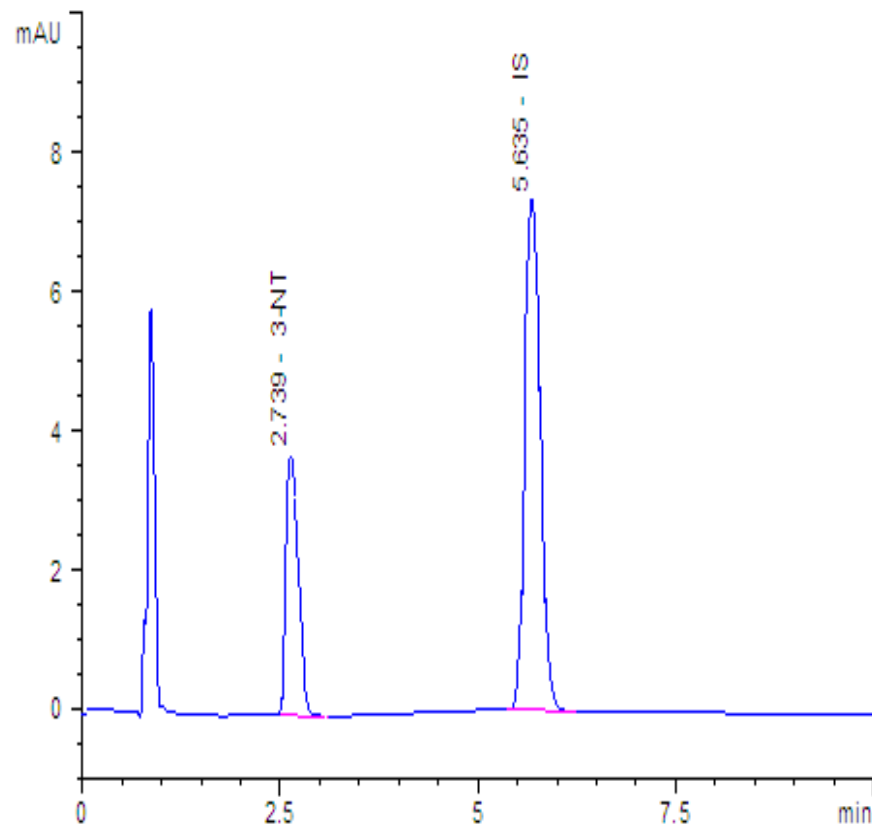


Fig. 1 :	Soluzione Test
	R.T. 2.739 3-Nitrotirosina
	R.T. 5.635 Standard Interno

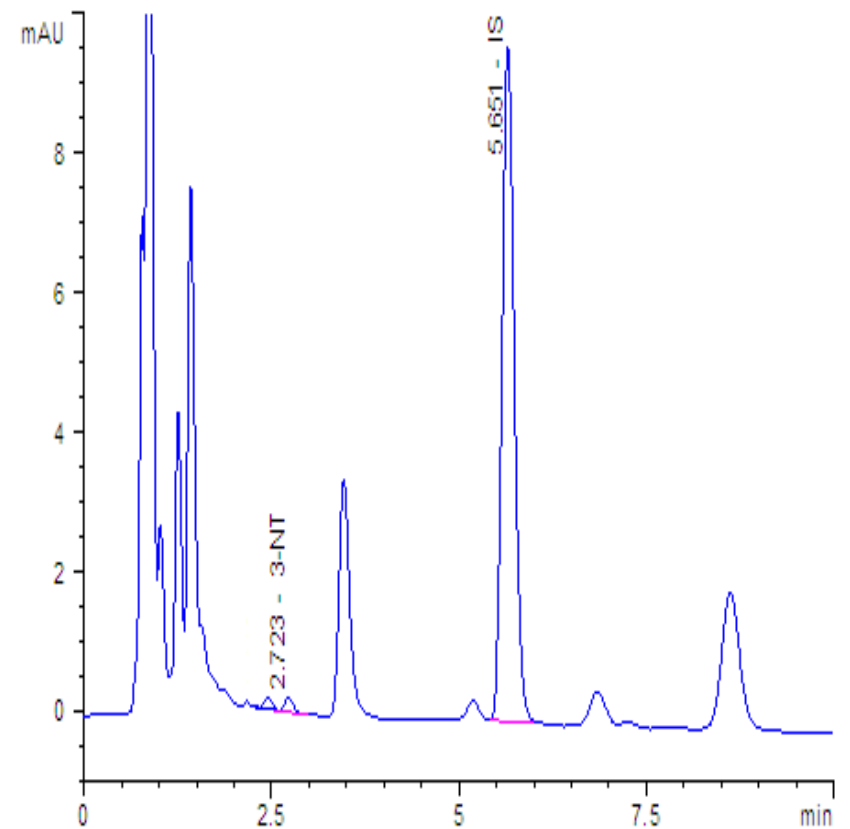


Fig. 2 :	Controllo Livello 1
	R.T. 2.723 3-Nitrotirosina 100 µg/L
	R.T. 5.651 Standard Interno