

CITRIC ACID

Determinazione enzimatica UV
in siero, urina e liquido seminale

5 x 20 ml

REF CY03-100

PRINCIPIO

L'acido citrico (citrato) viene convertito in ossalacetato e acetato in una reazione catalizzata dall'enzima citrato liasi.

In presenza degli enzimi malato deidrogenasi e lattato deidrogenasi l'ossalacetato e il piruvato, suo prodotto di decarbossilazione, vengono ridotti rispettivamente a L-malato e L-lattato con ossidazione del NADH.

La quantità di NADH ossidato, letta spettrofotometricamente a 340 nm è proporzionale all'acido citrico presente nel campione.

REAGENTI

Composizione del kit:

REF CY03-100 Quantità

REAGENT 1

CY03-100R1 1 x 105 ml

Tampone pH 7.8

REAGENT 2 (liofilo)

CY03-100R2 5 flaconi

NADH, L-LDH, L-MDH

REAGENT 3 (liofilo)

CY03-100R3 5 flaconi

CL

STANDARD (Std)

CY03-100S 1 x 2 ml

Acido citrico 250 mg/L

STABILITÀ: i reagenti conservati a 2-8°C sono stabili fino alla data di scadenza riportata sulla confezione.

PREPARAZIONE DEI REAGENTI DI LAVORO

REAGENTE 2

Ricostituire un flacone di Reagent 2 con 20 ml di Reagent 1. Agitare accuratamente fino a completa solubilizzazione.

STABILITÀ: 1 settimana a 2-8°C, 4 settimane a -20°C.

Non ricongelare più volte.

REAGENTE 3

Ricostituire un flacone di Reagent 3 con 5 ml di acqua distillata. Agitare delicatamente fino a completa solubilizzazione.

STABILITÀ: 1 settimana a 2-8°C, 4 settimane a -20°C.

Non ricongelare più volte.

CAMPIONE (vedere nota 2)

Urina.

Filtrare o centrifugare. Impiegare per il test il filtrato o il sovrantante. Se il campione viene diluito, tenere conto del fattore di diluizione.

STABILITÀ: 1 settimana a 4°C, 1 mese a -20°C.

Liquido seminale con o senza deproteinizzazione.

Se il liquido seminale non viene deproteinizzato centrifugare il campione e diluire il sovrantante in rapporto 1+9 con acqua distillata (fattore di diluizione F= 10).

STABILITÀ: conservare a -20°C.

Siero con o senza deproteinizzazione.

STABILITÀ: 1 settimana a 4°C, 1 mese a -20°C.

PROCEDIMENTO

Lunghezza d'onda: 340 nm
Cammino ottico: 1 cm
Lettura: contro acqua distillata
Temperatura: 37°C
Metodo: endpoint
Linearità: fino a 800 mg/L
Campione/R2/R3: 1/40/10

Pipettare in provette o cuvette contraddistinte:

C: Campione, Std: Standard, B/R: bianco reagente:

	C	Std	B/R
Campione	25 µl	-	-
Standard 250 mg/L	-	25 µl	-
Acqua distillata			25 µl
Reagente 2	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml

Miscelare accuratamente e incubare a 37°C per 5 minuti. Leggere l'assorbanza (A1) delle soluzioni contro acqua distillata per lo standard (A1 Std), per il campione (A1 C) e per il bianco reagente (A1B/R). Aggiungere:

Reagente 3	250 µl	250 µl	250 µl
------------	--------	--------	--------

Miscelare accuratamente ed incubare 10 minuti a 37°C. Leggere l'assorbanza (A2) dello standard (A2Std), dei campioni (A2C) e del bianco reagente (A2B/R) a 340 nm contro acqua distillata.

CALCOLO

Calcolare la differenza di assorbanza $\Delta(A) = A1 - A2$ per lo standard, i campioni e il bianco reagente.

La concentrazione di acido citrico nel campione si ottiene utilizzando la seguente formula:

$$\text{Acido citrico (mg/L)} = \frac{\Delta A (C) - \Delta A (B/R)}{\frac{\Delta A (\text{Std}) - \Delta A (B/R)}{A (B/R)}} \times 250$$

Se durante la preparazione del campione è stata eseguita una diluizione, il risultato deve essere moltiplicato per il fattore di diluizione F.

VALORI DI RIFERIMENTO

Urina: 288 – 902 mg/24 ore (ca. 1.5 L urina)
1.5 – 4.7 mmol/ 24 ore

Siero: 8,6 – 25,0 mg/L (0,045 – 0,13 mmol/L)

Liquido seminale: 4,0 – 6,9 mg/ ml (21 – 36 mmol/L)

PRESTAZIONI DEL METODO

Linearità: fino a 800 mg/L.

Per valori superiori diluire i campioni in modo opportuno e moltiplicare il valore ottenuto per il fattore di diluizione.

Precisione nella serie (su liquido seminale):

	Livello 1	Livello 2
Media (mg/ml)	2,8	6,0
DS	0,022	0,080
CV %	0,78	1,33

Precisione tra le serie (su liquido seminale):

	Livello 1	Livello 2
Media (mg/ml)	3,0	6,4
DS	0,035	0,198
CV %	1,17	3,09

Correlazione: il kit FAR per la determinazione dell'acido citrico presenta un coefficiente di correlazione pari a 0,96 rispetto ad un altro kit attualmente in commercio.

Interferenze: nessuna interferenza da lattato, piruvato, ciclosporina A e bilirubina. Una eventuale emolisi del siero non interferisce nel test.

OSSERVAZIONI

1. Leggere le informazioni contenute nelle Schede di Sicurezza.

2. Trattamenti di deproteinizzazione del campione:

a. Siero:

con acido perclorico: mescolare 1,0 ml di siero con 1,0 ml di acido perclorico ghiacciato (1mol/L) e centrifugare. Neutralizzare 1,0 ml di sovrantante con 0,5 ml di soluzione di carbonato di potassio (0,3 mol/L). Lasciar riposare per 10 min a 0-4°C, quindi filtrare e impiegare il filtrato per il test. Tenere conto del fattore di diluizione (F= 2.45) condizionato dalla preparazione del campione.

per filtrazione: filtrare il siero con filtri aventi limite di esclusione di 40000 Dalton.

b. Liquido seminale:

mescolare 0,1 ml di campione con 1,9 ml di acido perclorico (0,3 mol/L), riporre la miscela per 5-10 min in un bagno ghiacciato e quindi centrifugare. Mescolare 1,0 ml di sovrantante con 0,5 ml di soluzione di carbonato di potassio (0,73 mol/L) e riporre la miscela in un bagno di ghiaccio. Dopo 15 min centrifugare e impiegare il sovrantante per la determinazione dell'acido citrico. Tenere conto del fattore di diluizione (F=30) condizionato dalla preparazione del campione.








3. Smaltire i rifiuti secondo le leggi vigenti.

4. Sono disponibili le applicazioni per i più comuni analizzatori automatici.

BIBLIOGRAFIA

- Marty et al. Clin.Chem. 30/7, 1231-1233 (1984)
- Rossi et al. Clin. Biochemistry 30/2 143-148 (1997)

LEGENDA SIMBOLI

	dispositivo medico diagnostico in vitro
	numero di lotto
	numero di catalogo
	limite di temperatura
	usare entro la data
	attenzione
	consultare le istruzioni per l'uso

IVD

CE

Ed. 01 - Mar 2021 RR

PRODUTTORE

 FAR

Via Fermi, 12 - 37026 Pescantina - VERONA - ITALY
tel +39 045 6700870

sito web <http://www.fardiac.com>

e-mail: order@fardiac.com

e-mail: fardiac@fardiac.com