



KYSELINA VANILMANDL'OVÁ (VMA)



Kód 11003	20 testov	KYSELINA VANILMANDL'OVÁ
Skladovanie pri 2 - 30°C		
Reagenty pre meranie koncentrácie kyseliny vanilmandľovej Výhradne pre profesionálnu in vitro diagnostiku		
		Chromatografia - spektrofotometria

PRINCÍP METÓDY

Kyselina vanilmandľová sa zachytí na anexovej živici, interferujúce látky sa premývaním vyplavajú a potom sa VMA uvoľní z povrchu živice. VMA sa stanoví spektrofotometricky ako vanilín po predchádzajúcej oxidácii v alkalickom prostredí. ^{1,2,3}

Obsah a zloženie

- 1. Reagent.** 1X25 ml. Fosforečnan sodný – pufer 0,6mol/l, azid sodný 15mmol/l, pH 7,0
- 2. Reagent.** 1X20 ml. Octan sodný – pufer 0,2mol/l, azid sodný 15mmol/l, pH 6,1
- 3. Reagent.** 1X70 ml. Chlorid sodný 2mol/l, azid sodný 15mmol/l
- 4. Mikrokolóny.** 1X20. Obsahujú presne navážené množstvo pufrovaného anexu vo forme živice, azid sodný 1,5mmol/l.
- A. Reagent .** 1X30ml. Uhličitan draselný 3mol/l.

Výstraha :

H302 – Zdraviu škodlivý pri požití.

H315 – Dráždi kožu

H319 – Spôsobuje vážne podráždenie očí

H335 – Môže spôsobiť podráždenie dýchacích ciest.

Upozornenie :

P301+P312 – PRI POŽITÍ : Ak sa necítite dobre, volajte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ STREDISKO alebo lekára.

P302 + P352 – PRI STYKU S KOŽOU : Omyte veľkým množstvom vody a mydla.

P304 + P340 – PRI VDÝCHNUTÍ: Preneste postihnutého na čerstvý vzduch a ponechajte ho v klude v polohe uľahčujúcej dýchanie.

P305 + P351+ P338 - Po zasiahnutí očí : Niekoľko minút ich opatrne oplachujte vodou. Ak používate kontaktné šošovky a je to možné, odstráňte ich. Pokračujte vo vyplachovaní.

P333 + P313 – Pri podráždení kože alebo vyrážke :

Vyhľadajte lekársku pomoc/ošetrovanie.

- B. Reagent.** Pre prípravu 10ml. Jodistan sodný (sodium m-periodate) prášok, porenkonštitúcií 0,12mol/l.

Výstraha :

H272 – Môže zosilniť požiar; oxidant.

H301 – Toxický pri požití.

H315 – Dráždi kožu

H319 – Spôsobuje vážne podráždenie očí

H335 – Môže spôsobiť podráždenie dýchacích ciest.

Upozornenie :

P301 + P310 – PRI POŽITÍ: Okamžite volajte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ STREDISKO alebo lekára.

P305 + P351+ P338 - Po zasiahnutí očí : Niekoľko minút ich opatrne oplachujte vodou. Ak používate kontaktné šošovky a je to možné, odstráňte ich. Pokračujte vo vyplachovaní.

- C. Reagent.** Pre prípravu 10ml. Siričitan sodný (metabisulfid) prášok, 0,67mol/l po rekonštitúcií

Výstraha :

H302 – Zdraviu škodlivý pri požití

H318 – Spôsobuje vážne poškodenie očí

EUH 031 – Uvoľňuje toxický plyn pri styku s kyselinami.

- S.Štandard.** Pre prípravu 5ml. Koncentrácia rekonštituovaného

štandardu je uvedená na etikete fľaštičky. Hodnota koncentrácie štandardu je overená podľa Štandardného referenčného materiálu 925 (National Institute of Standards and Technology, USA).

Ďalšie varovania a upozornenia – viď bezpečnostný list.

SKLADOVANIE

Skladujte pri 2 – 30°C.

Reagenty a štandard sú stabilné do dátumu uvedeného na štítku v prípade, že sú skladované uzatvorené a je zabránené kontaminácii v priebehu používania.

Príznačky zhoršenia kvality :

- Reagenty : Prítomnosť zrazeniny, zákalu , absorbancia

- blanku nad 0,050 pri 360 nm

- Mikrokolóny : neprítomnosť pufru nad krycím diskom živice.

PRÍDAVNÉ REAGENCIE

Koncentrovaná kyselina chlorovodíková (kvalita p.a.)

PRÍPRAVA REAGENCIÍ

Reagent (B) a (C) : Obsah fľaštičky (prášok) rozpustte v 10ml destilovanej vody. Stabilita – 5 mesiacov pri 2 – 8 °C.

Štandard (S) : Obsah fľaštičky (prášok) rozpustte v 5ml reagentu (3) a pridajte 1 kvapku koncentrovanej kyseliny chlorovodíkovej. Stabilita – 2 mesiace pri 2 – 8 °C.

PRÍDAVNÉ ZARIADENIA

- Spektrofotometer alebo fotometer s filtrom 360nm (358 – 362)

- Termostabilný vodný kúpeľ

VZORKY

Moč. 24 hodinové vzorky odobrané štandardným spôsobom.

Udržujte pri 2-8°C a použite do 24 hodín. Vzorky môžu byť skladované pri 2-8°C po dobu max. 5 dní, alebo pri -20°C po dobu 1 mesiaca pri pH upravenom na hodnotu 1-2 pomocou koncentrovanej kyseliny chlorovodíkovej. Pred testovaním vzorku odstredte alebo prefiltrujte.

POSTUP

Príprava vzorky

1. Pipetujte do skúmavky (Poznámka 1) :

Vzorka	1,0 ml
Reagent (1)	1,0 ml

Chromatografická separácia

2. Najprv odstráňte horný uzáver kolóny (4), potom uzáver v jej spodnej časti. Pomocou okrúhleho konca pipety zatlačte horný filter smerom dole k povrchu živice tak, aby ste ju príliš nestlačili. Všetku kvapalinu nechajte voľne vytečť von.
3. Nalejte obsah skúmavky (upravená vzorka) do mikrokolóny a nechajte voľne vytečť von.
4. Skúmavku vypláchnite s 2-3 ml destilovanej vody a vylejte ju do mikrokolóny. Kvapalinu z mikrokolóny nechajte voľne vytečť von.
5. Do mikrokolóny pridajte :



KYSELINA VANILMANDĽOVÁ (VMA)



Kód 11003	20 testov	KYSELINA VANILMANDĽOVÁ Chromatografia - spektrofotometria
Skladovanie pri 2 - 30°C		
Reagenty pre meranie koncentrácie kyseliny vanilmandľovej Výhradne pre profesionálnu in vitro diagnostiku		

Reagent (2)	5,0ml	nechajte voľne vytečť von
-------------	-------	---------------------------

6. Kolónu umiestnite nad skúmavku a pipetujte :

Reagent (3)	6,0ml	zbierajte eluát
-------------	-------	-----------------

7. Eluát riadne premiešajte. (Poznámka 2)

Kolorimetria

8. Pipetujte do označenej skúmavky :

	Reagent blank	štandard	Vzorka blank	vzorka
Eluát	-	-	1,0 ml	1,0 ml
Reagent (3)	1,0 ml	0,9 ml	-	-
Štandard (S)	-	0,1 ml	-	-
Reagent (A)	0,4 ml	0,4 ml	0,4 ml	0,4 ml
Reagent (B)	0,1 ml	0,1 ml	-	0,1 ml

9. Poriadne premiešajte a nechajte v kľude 30 minút stáť pri teplote 37°C, potom pridajte :

Reagent (C)	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml
Reagent (B)	-	-	0,1 ml	-

10. Odčítajte absorbancie (A) blanku vzorky a štandardu oproti reagent blanku pri 360 nm. Absorbancia je stabilná po dobu 2 hodín.

VÝPOČET

Koncentrácia VMA vo vzorke sa vypočíta :

$$\frac{A_{\text{vzorka}} - A_{\text{vzorka blank}}}{A_{\text{štandard}}} \times \frac{V_E}{V_S} \times \frac{V_{STC}}{V_{EC}} \times C_{ST} \times \frac{1}{R_{EC}} = C_{\text{vzorka}}$$

Objem vzorky (V_S) je 1ml, objem eluátu (V_E) je 6ml, objem eluátu pri kolorimetrii (V_{EC}) je 1 ml, objem štandardu pri kolorimetrii (V_{STC}) je 0,1ml, koncentrácia štandardu (C_{ST}) je uvedená na etikete a priemerná výťažnosť (R_{EC}) je 0,888. Nasledujúci vzorec slúži pre výpočet koncentrácie :

$$\frac{A_{\text{vzorka}} - A_{\text{vzorka blank}}}{A_{\text{štandard}}} \times C_{ST} \times 0,676 = C_{\text{vzorky}}$$

Množstvo VMA v 24 hodinovej vzorke moči sa vypočíta :

mg/l	x V moča/24 h (L) =	mg VMA / 24 h
µmol/l		µmol VMA / 24 h

REFERENČNÉ HODNOTY

Moč⁶: < 13,6 mg/24 h = < 68,6 µmol/24 h. Tieto hodnoty sú iba orientačné. Každé laboratórium by si malo stanoviť svoje vlastné, normálne rozmedzie.

KONTROLA KVALITY

Pre overenie správnosti merania sa odporúča použiť Kontrolný moč (kód 18036 a 18037). Každé laboratórium by si malo stanoviť svoju vlastnú vnútornú kontrolu kvality a postupy pre nápravu pre prípad, že kontroly nie sú v tolerančnom rozpätí.

METROLOGICKÁ CHARAKTERISTIKA

- detekčný limit : 1,9mg/l = 9,7 µmol/l
- linearita : 300mg/l = 1500 µmol/l ; pri vyšších hodnotách vzorku nariedte na 1/2 destilovanou vodou a meranie opakujte.
- opakovateľnosť (jednej vzorky) :

Priemerná koncentrácia	CV	n
11,2 mg/l = 56 µmol/l	5,0%	25
43,2 mg/l = 216 µmol/l	2,5%	25

- reprodukovateľnosť (run to run) :

Priemerná koncentrácia	CV	n
11,2 mg/l = 56 µmol/l	8,6%	25
43,2mg/l = 216 µmol/l	8,2%	25

- citlivosť : 7,5 mA.L/mg = 1,5 mA.L/µmol

- správnosť : výsledky získané touto súpravou pri porovnaní s teoretickými hodnotami nevykazovali systematické rozdiely. Podrobnosti o porovnávačej skúške sú k dispozícii na vyžiadanie .

- interferencie : kyselina gentisová do 1000 mg/l, kyselina



KYSELINA VANILMANDL'OVÁ (VMA)



Kód 11003 20 testov	KYSELINA VANILMANDL'OVÁ Chromatografia - spektrofotometria
Skladovanie pri 2 - 30°C	
Reagenty pre meranie koncentrácie kyseliny vanilmandľovej Výhradne pre profesionálnu in vitro diagnostiku	

homogentisová do 2000 mg/l a kyselina 5-hydroxyindolactová do 50mg/l neinterferujú. Kyselina p – hydroxymandľová nad 12,5 mg/l interferuje. Interferovať môžu aj niektoré lieky a ďalšie látky⁵.

tel.: +420 257 220 760

SK : JK-Trading spol.s.r.o., Mečíkova 30, 841 07 Bratislava, tel.: + 421 264 774 591

DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

Kyselina vanilmandľová je hlavným konečným produktom katecholamínového metabolizmu a vylučuje sa močom. Jej množstvo odráža celkovú produkciu adrenalínu a noradrenalínu v tele. Zvýšené denné hodnoty VMA sú spojené so sekréciou katecholamínov z neurochromafinových tumorov , ako sú feochromocytómy, neuroblastómy alebo paragangliómy.^{4,6} Klinická diagnóza by nemala byť stanovená len na základe výsledku jediného testu, je potrebné zhodnotiť klinické i ďalšie laboratórne údaje.

V prípade mimoriadnych udalostí:

ČR : Toxikologické informační středisko (TIS), klinika pracovního lékařství VFN a . LF UK, tel.: +420 224 91 92 93 a +420 224 91 54 02

SK : Toxikologické informačné centrum Bratislava, 833 05, Limbová 5, tel.: +421 254 774 166

POZNÁMKY

1. V prípade, že bola vzorka skladovaná a jej pH bolo upravené koncentrovanou Hcl, pH vzorky upravte zriedeným hydroxidom sodným na hodnotu 6,5 – 7,5
2. Test je možné v tomto kroku stanovenia prerušiť. Eluát skladujte v uzatvorenej skúmavke maximálne 24 hodín pri 2–8 °C.

LITERATÚRA

1. Wybenga D, Pileggi VJ. Quantitative determination of 3-methoxy-4-hydroxy-mandelic acid (VMA) in urine. Clin Chim Acta 1966; 16: 147-154.
2. Farndon JR, Davidson HA, Johnston IDA, Wells SA. VMA excretion in patients with Pheochromocytoma. Ann Surg 1980; 191: 259-263.
3. John J. Pisano , J. Richard Crout, David Abraham. Determination of 3-methoxy-4-hydroxymandelic acid in urine. Clin Chim Acta 1962; 7: 277-284.
4. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, WB Saunders Co, 2005.
5. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
6. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4rd ed. AACC Press,

UPOZORNENIE

Slovenský preklad k 27.7.2016.
Vzhľadom k možnej inovácii výrobku sa odporúča prekontrolovať slovenský preklad s originálnym príbalovým letákom tak, že sa porovnajú identifikačné čísla uvedené v zápätí. Originálny návod nájdete v súprave a na internetovej adrese www.biosystems-sa.com.
Slovenský návod je k dispozícii na www.jktrading.cz

Výhradný distribútor:

ČR : JK-Trading spol.s.r.o., Křivatcová 421/5, 150 21 Praha5,