



# KYSELINA VANILMANDL'OVÁ ( VMA )



Kód 11003	20 testov
Skladovanie pri 2 - 30°C	
Reagencie na stanovenie koncentrácie kyseliny vanilmandľovej. Výhradne pre profesionálnu in vitro diagnostiku.	

## KYSELINA VANILMANDL'OVÁ

### 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.<sup>1,2,3</sup>

#### OBSAH A ZLOŽENIE

- 1. Reagencia.** 1X25 ml. Fosforečnan sodný – pufer 0,6mol/l, azid sodný 15mmol/l, pH 7,0
  - 2. Reagencia.** 1X20 ml. Octan sodný – pufer 0, 2mol/l, azid sodný 15mmol/l, pH 6,1
  - 3. Reagencia.** 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. Reagencia.** 1X30ml. Uhlíčan 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 kľude 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. Reagencia.** Na prípravu 10ml. Jodistan sodný ( sodium m-periodate) prášok, porekonštitúcií 0,12mol/l.  
Výstraha :  
H272 – Môže zesilniť 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. Reagencia.** Na prípravu 10ml. Sírčitán 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.** Na 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.  
Reagencie 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 :**  
• Reagencie : 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

**Reagencia (B) a (C) :** Obsah fľaštičky (prášok) rozpustíte v 10ml destilovanej vody. Stabilita – 5 mesiacov pri 2 – 8 °C.  
**Štandard (S) :** Obsah fľaštičky (prášok) rozpustíte v 5ml reagencie (3) a pridajte 1 kvapku koncentrovanej kyseliny chlorovodíkovej. Stabilita – 2 mesiace pri 2 – 8 °C. Pre dobu dlhšiu ako 2 mesiace uchovávajúce zmrazené v alikvotoch. Po rozmrazení znovu nezmrázovať.

#### 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
Reagencia (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 2-3 ml destilovanej vody a vylejte ju do mikrokolóny. Kvapalinu z mikrokolóny nechajte voľne vytečť von.
5. Do mikrokolóny pridajte :  

Reagencia (2)	5,0ml	nechajte voľne vytečť von
---------------	-------	---------------------------
6. Kolónu umiestnite nad skúmavku a pipetujte :  

Reagencia (3)	6,0ml	zbierajte eluát
---------------	-------	-----------------
7. Eluát riadne premiešajte. (Poznámka 2)



# KYSELINA VANILMANDL'OVÁ ( VMA )



Kód 11003	20 testov
Skladovanie pri 2 - 30°C	
Reagencie na stanovenie koncentrácie kyseliny vanilmandľovej. Výhradne pre profesionálnu in vitro diagnostiku.	

## KYSELINA VANILMANDL'OVÁ

### Chromatografia - spektrofotometria

#### Kolorimetria

8. Pipetujte do označenej skúmavky :

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

Reagencia (C)	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml
Reagencia (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<sub>S</sub>) je 1ml, objem eluátu (V<sub>E</sub>) je 6ml, objem eluátu pri kolorimetrii (V<sub>EC</sub>) je 1 ml, objem štandardu pri kolorimetrii (V<sub>STC</sub>) je 0,1ml, koncentrácia štandardu (C<sub>ST</sub>) je uvedená na etikete a priemerná výťažnosť (R<sub>EC</sub>) 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 VMA	x V moču/24 h (L) =	mg VMA / 24 h
μmol/l VMA		μmol VMA / 24 h

#### REFERENČNÉ HODNOTY

Moč<sup>6</sup>: < 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 naředíte 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

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

- interferencie : kyselina gentisová do 1000 mg/l, kyselina 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 potravinové doplnky, lieky a ďalšie látky<sup>5</sup>.

#### DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

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

#### 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.
3. Dlhé uskladnenie kolóniek vedie k utlačeniu živice a tým aj ku spomaleniu prietoku. Pre obnovu ich funkcie obráťte kolónu pred stanovením na 10 minút tak, aby sa živica presypala. Potom kolónu umiestnite do pracovnej polohy a živicu nechajte usadiť.



## KYSELINA VANILMANDL'OVÁ ( VMA )



Kód 11003	20 testov	<b>KYSELINA VANILMANDL'OVÁ</b> Chromatografia - spektrofotometria
Skladovanie pri 2 - 30°C		
Reagencie na stanovenie koncentrácie kyseliny vanilmandľovej. Výhradne pre profesionálnu in vitro diagnostiku.		

### 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, Brunis 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 3.1.2022.

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](http://www.biosystems-sa.com).

Slovenský návod je k dispozícii na [www.jktrading.cz](http://www.jktrading.cz)

### Výhradný distribútor:

**ČR** : JK-Trading spol.s.r.o., Křivátcová 421/5, 150 21 Praha 5,  
tel.: +420 257 220 760

**SK** : JK-Trading spol.s.r.o., Dlhá 43, 900 31, Stupava  
tel.: + 421 264 774 591

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