

Kód 11010	40 testů
Skladování při 2 - 30°C	
Reagencie pro měření koncentrace kyseliny 5-hydroxyindolactové. Pouze pro in vitro diagnostiku v klinických laboratořích.	

Kyselina 5-hydroxyindol octová (5-HIAA)



Kyselina 5-hydroxyindolactová (5-HIAA) chromatografie

PRINCIP METODY

Produkty tryptofanového metabolismu ve vzorku jsou zachyceny neutrální pryskyřicí. Serotonin (5-HT) a 5-hydroxytryptofan (5-HTP) jsou eluovány společně v první fázi a poté 5-hydroxyindolactová kyselina (5-HIAA). Tyto metabolity jsou kvantitativně stanoveny spektrofotometricky jako komplex vzniklý reakcí s 1-nitroso-2-naftolem^{1,2}.

OBSAH A SLOŽENÍ

- Reagencie.** 1 x 500 mL. Kyselina chlorovodíková 0,1 mol/L.
VAROVÁNÍ: H315: Způsobuje podráždění kůže. H319: Způsobuje vážné podráždění očí. H290: Může být korozivní pro kovy. P305+P351+P338: PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Opatrně několik minut vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, pokud jsou přítomny a lze je snadno odstranit. Pokračujte ve vyplachování. P332+P313: Při podráždění kůže: Vyhledejte lékařskou pomoc/opatření. P390: Absorbujte rozlité látky, aby nedošlo k poškození materiálu.
- Reagencie.** 1 x 200 mL. Amoniak 20 mmol/L.
- Mikrokolony.** 2 x 20. Obsahují přesně navážené množství pufrované neutrální pryskyřice.
- A. Reagencie.** 1 x 100 mL. Kyselina sírová 1 mol/L.
Varování : H315 – Dráždí kůži.H319 – Způsobuje vážné podráždění očí.P305 + P351 + P338 – PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.P332 + P313 – Při podráždění kůže: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.
- B. Reagencie.** 1 x 100 mL. 1-Nitroso-2-naftol 6 mmol/L, etanol 99%.
Nebezpečí : H225 – Vysoce hořlavá kapalina a páry.
P420 – Skladujte odděleně od ostatních materiálů.
- C. Reagencie.** 1 x 5 mL. Dusitan sodný 0,7 mol/L.
Varování : H302 – Zdraví škodlivý při požití.H411 – Toxický pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky.P330 – Vypláchněte ústa.P301 + P312 – PŘI POŽITÍ: Necítíte-li se dobře, volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO
P391 – Uniklý produkt seberte.
- D. Reagencie.** 1 x 280 mL. Dichlorethan.
Nebezpečí : H225 – Vysoce hořlavá kapalina a páry.H302 – Zdraví škodlivý při požití.H315 – Dráždí kůži. H319 – Způsobuje vážné podráždění očí.H335 – Může způsobit podráždění dýchacích cest.H350 – Může vyvolat rakovinu P210 – Chraňte před teplem/jiskrami/otevřeným plamenem/horkými povrchy. – Zákaz kouření. P261 – Zamezte vdechování prachu/dýmu/plynu/mlhy/par/aerosolů.
P305 + P351 + P338 – PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování. P308 + P313 – PŘI expozici nebo podezření na ni: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření. P420 – Skladujte odděleně od ostatních materiálů.
- S. Standard.** 1 x 20 ml. Serotoninhydrochlorid 55,6 mg/L to je ekvivalent ke kyselině 5-hydroxyindolactové 50 mg / l = 261 μmol / l, kyselina chlorovodíková 0,1 mol / l, stabilizátor. Vodný primární standard.

SKLADOVÁNÍ

Skladujte při 2-30 °C.
Reagencie a standard jsou stabilní do data expirace uvedeného na štítku, jestliže jsou skladovány uzavřené a je zabráněno kontaminaci v průběhu jejich užívání.

Známky zhoršení kvality:

- Reagencie: Přítomnost sraženiny, zákalu, absorbance blanku nad 0,060 při 540 nm (1 cm kyveta).
- Mikrokolony: Nepřítomnost pufry nad krycím diskem pryskyřice.

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

Dodržujte běžná opatření požadovaná pro manipulaci se všemi laboratorními reagensy. Pro profesionální uživatele je na vyžádání k dispozici bezpečnostní list. Likvidace veškerého odpadního materiálu by měla být v souladu s místními směrnici. Jakýkoli vážný incident, který by mohl nastat v souvislosti se zařízením, musí být oznámen společnosti BioSystems S.A

PŘÍDAVNÁ ZAŘÍZENÍ

- Spektrofotometr nebo fotometr s filtrem 540 nm (510-570)
- Stolní centrifuga

VZORKY

Moč. 24 hodinový vzorek odebraný standardním postupem, který byl uchován při 2-8°C a stanoven do 24 h od odběru.
Vzorek může být skladován maximálně 15 dní při 2-8°C, nebo 1 měsíc při - 20°C, jestliže bylo upraveno pH na 3-6 koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou. Vzorek před testováním odstředte nebo přefiltrujte.

POSTUP

Chromatografická separace

- Odstraňte jako první horní uzávěr (3) a poté spodní uzávěr kolony. Pomocí okrouhlého konce pipety zatlačte horní filtr směrem dolů k povrchu pryskyřice tak, abyste ji příliš nestlačili. Ponechte kapalinu volně protékat kolonou ven. (Pozn.1)

- Přidejte do kolony:

Reagencie (1)	2,0 mL	Ponechte volně protékat ven
Vzorek	2,0 mL	Ponechte volně protékat ven
Reagencie(1) (Pozn.2)	10,0 mL	Ponechte volně protékat ven
Reagencie (2)	1,0 mL	Ponechte volně protékat ven

- Kolonu umístěte nad centrifugační šroubovací zkumavku (o objemu 10 ml) a pipetujte:

Reagencie (2)	2,0 mL	Sbírejte eluát
---------------	--------	----------------

- Pořádně promíchejte.

Kolorimetrie

- Pipetujte do označené 10 mL šroubovací centrifugační zkumavky:

	Blank	Standard	Vzorek
Reagencie (2)	—	—	Eluát
Standard (S)	2,0 mL	1,5 mL	—
Reagencie (A)	—	0,5 mL	—
Reagencie (B)	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL
Reagencie (C)	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL
Reagencie (C)	1 kapka	1 kapka	1 kapka

- Pořádně promíchejte a ponechte 10 minut stát v klidu při pokojové teplotě (15-30°C), pak přidejte:

Reagencie (D)	3,0 mL	3,0 mL	3,0 mL
---------------	--------	--------	--------

- Uzavřené zkumavky 10 sekund pořádně promíchej na mixeru a pak 2 minuty centrifugujte při 3000 ot./min.

- Odečtěte absorbance (A) vrchní fáze vzorku a standardu proti blanku při 540 nm.(Poznámka 3)

VÝPOČET

Koncentrace 17-OH ve vzorku se vypočítá:

$$\frac{A_{\text{Sample}}}{A_{\text{Standard}}} \times \frac{V_E}{V_S} \times \frac{V_{\text{STC}}}{V_{\text{EC}}} \times C_{\text{ST}} \times \frac{1}{\text{Rec}} = C_{\text{Sample}}$$

Kód 11010	40 testů
Skladování při 2 - 30°C	
Reagencie pro měření koncentrace kyseliny 5-hydroxyindolactové. Pouze pro in vitro diagnostiku v klinických laboratořích.	

Kyselina 5-hydroxyindolactová (5-HIAA)



Kyselina 5-hydroxyindolactová (5-HIAA) chromatografie

Objem vzorku (V_S) je 2 mL, objem eluátu (V_E) je 2 mL, objem eluátu při kolorimetrii (V_{EC}) je 2 mL, objem Standardu při kolorimetrii (V_{SIC}) je 0,5 mL, koncentrace Standardu (C_{St}) je 50 mg/L nebo 261 $\mu\text{mol/L}$ a průměrná výtěžnost (Rec) je 0,87.

Následující vzorec je pro výpočet koncentrace:

$\frac{A \text{ vzorku}}{A \text{ standardu}}$	$\times 14,4 = \text{mg/L 5-HIAA}$
	$\times 75,1 = \mu\text{mol/L 5-HIAA}$

Množství 5-HIAA ve 24 h vzorku moče se vypočítá:

mg/L	$\times V_{\text{Moče/24 h}} (L) =$	mg/24 h
$\mu\text{mol/L}$		$\mu\text{mol/24 h}$

REFERENČNÍ HODNOTY

Moč³: 2 - 6 mg/24-h = 10,4- 31,2 $\mu\text{mol/24h}$

Tyto hodnoty³ jsou pouze orientační; Každá laboratoř by si měla stanovit svá vlastní normální rozmezí.

KONTROLA KVALITY

Pro ověření správnosti měření se doporučuje použít Kontrolní moč (kód. 18036 a 18037). Každá laboratoř by si měla stanovit svojí vlastní vnitřní kontrolu kvality a postupy pro nápravná jednání, jestliže kontroly nejsou v tolerančním rozpětí.

METROLOGICKÁ CHARAKTERISTIKA

- Detekční limit: 0,9 mg/L = 4,9 $\mu\text{mol/L}$.
- Linearita: 200 mg/L = 1.050 $\mu\text{mol/L}$. Při vyšších hodnotách zředte vzorek 1/2 destilovanou vodou a opakujte měření.
- Opakovatelnost (jednoho vzorku):

Průměrná koncentrace	CV	n
1,5 mg/L = 8,1 $\mu\text{mol/L}$	5,2 %	25
12,9 mg/L = 67,9 $\mu\text{mol/L}$	3,6 %	25

- Reprodukovatelnost (run to run):

Průměrná koncentrace	CV	n
1,5 mg/L = 8,1 $\mu\text{mol/L}$	7,7 %	25
12,9 mg/L = 67,9 $\mu\text{mol/L}$	7,2 %	25

- Citlivost: 11,98 mA.L/mg = 2,29 mA.L/ μmol .
- Správnost: Výsledky získané touto soupravou nevykazovaly systematické rozdíly při porovnání teoretickými hodnotami. Podrobnosti o porovnávací zkoušce jsou k dispozici na vyžádání.
- Interference: Některé potraviny, jako jsou banány, ananasy, avokáda, kiwi, švestky, rajčata, vlašské ořechy a čokoláda zvyšují vylučování 5-HIAA. Proto by se neměly jíst 3-4 dny před odběrem vzorku. Léky a další látky mohou interferovat⁴.

DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

5-hydroxyindolactová kyselina (5-HIAA) je konečným produktem tryptofanového metabolismu a je vylučována močí. Je výsledkem stálé oxidativní deaminace serotoninu (5-hydroxytryptaminu). Serotonin, silný stimulant hladkého svalstva je produkován ve velkém množství karcinoidními tumory a proto se vysoké hladiny 5-HIAA nacházejí v moči pacientů s těmito tumory^{3,5}. Klinická diagnóza by neměla být stanovena jen na základě výsledku jednoho testu, ale měly by být propojeny klinické a laboratorní údaje.

POZNÁMKY

1. Někdy se ve vrstvě pryskyřice mohou objevit tmavé částice. Jejich výskyt neovlivňuje stanovení.
2. **Volitelné vymytí serotoninu:** (získaný výsledek bude pouze orientační).

Po aplikaci vzorku pipetujte do kolony:

Reagencie (1)	4,0 mL	Ponechte volně protékat ven
Reagencie (1)	6,0 mL	Sbírejte eluát

Chromatografická separace může pokračovat přidáním reagencie 2 (pro získání 5-HIAA eluátu).

Protřepejte eluát (obsahující serotonin a 5-hydroxytryptofan), napipetujte 2 ml do 10 ml centrifugační zkumavky se šroubovacím víčkem a pokračujte kolorimetrií tak, jak je popsáno pro stanovení 5-HIAA.

Koncentrace Serotoninu+ 5-hydroxytryptofanu se vypočítá podle vzorce:

$\frac{A \text{ vzorku}}{A \text{ standardu}}$	$\times 45,4 = \text{mg/L Serotoninu}$
	$\times 258 = \mu\text{mol/L Serotoninu}$

3. Jestliže se v horní fázi eluátu objeví zákal, odstraňte tuto část, přidejte kousek bezvodého síranu sodného, protřepejte a odstředěte.
4. **Pozn. distributora:** Dlouhodobé uskladnění kolonek vede k utlačení pryskyřice a tím i ke zpomalení průtoku kapaliny přes pryskyřici. Pro obnovu funkce obraťte kolonu před stanovením na 10 minut tak, aby se pryskyřice přesypala. Poté kolonu umístěte do pracovní polohy a pryskyřici nechte usadit.

LITERATURA

1. Udenfriend S, Titus E, Weissbach H. The identification of 5-hydroxy-3-indoleacetic acid in normal urine and a method for its assay. *J Biol Chem* 1955; 216:499-505.
2. Contractor SF. A rapid quantitative method for the estimation of 5-hydroxyindoleacetic acid in human urine. *Biochem Pharm* 1966; 15:1701-1706.
3. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, WB Saunders Co, 2005.
4. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
5. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4rd ed. AACC Press, 2001.

UPOZORNĚNÍ

Překlad revidován k datu: 20.3.2024

Vzhledem k možné inovaci výrobku Vám doporučujeme překontrolovat český překlad s originálním příbalovým letákem porovnáním podle identifikačního čísla návodu uvedeném v zápatí. Originální návod, LOT certifikát a bezpečnostní listy jsou k dispozici na internetové adrese: <https://info.bio> a na: www.jktrading.cz

Výhradní distributor:

ČR: JK-Trading spol.s.r.o., Křivatcová 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, jk-trading@jk-trading.sk

V případě mimořádných událostí:

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