

## РЕАГЕНТИ

# ДЛЯ ВИМІРЮВАННЯ КОНЦЕНТРАЦІЇ ВАНІЛІЛМІГДАЛЬНОЇ КИСЛОТИ

### 11003, VANILMANDELIC ACID

Каталог. № : 11003 Методика від 09-2014  
Кількість визначень: 20  
Виробник : BioSystems S.A.  
(Іспанія)



Основною при проведенні аналізу є оригінал інструкції англійською мовою, вкладеної в набір. Номер і дата версії оригіналу та перекладу інструкції повинні співпадати.

Зберігати при температурі 15-30 °С

#### ПРИНЦИП МЕТОДУ

Ванілілмigdальна кислота (VMA) зразка утримується аніонно-обмінною смолою і елююється після промивання побічних субстанцій. VMA визначається кількісно спектрофотометрично як ванілін після окислення періодатом в лужних умовах.

#### СКЛАД НАБОРУ

- Реагент.** 1x25 мл. Буфер фосфатно-натрієвий 0,6 моль/л, рН 7,0, азид натрію 15 ммоль/л.
  - Реагент.** 1x120 мл. Ацетатний натрієвий буфер 0,2 моль/л, рН 6,1, азид натрію 15 ммоль/л.
  - Реагент.** 1x170 мл. Хлорид натрію 2 моль/л, азид натрію 15 ммоль/л.
  - Мікроколони.** 1x20. Містять попередньо зважену кількість буферизованої аніонно-обмінної смоли, азид натрію 15 ммоль/л.
- A. Реагент.** 1x30 мл. Карбонат натрію 3 моль/л.  
*ПОПЕРЕДЖЕННЯ:* H302: Шкідливий при ковтанні. H315: Викликає подразнення шкіри. H319: Спричиняє серйозне подразнення очей. H335: Може викликати подразнення дихальних шляхів. R301+R312: ПРИ КОВТАННІ: Звернутися в ТОКСИКОЛОГІЧНИЙ ЦЕНТР або до лікаря, якщо ви відчуваєте нездужання. R302+R352: ПРИ ПОПАДАННІ НА ШКІРУ: Промити великою кількістю води і мила. R304+R340: ПРИ ВДИХАННІ: Винести пацієнта на свіже повітря і забезпечити йому повний спокій в зручному для дихання положенні. R305+R351+R338: ЯКЩО В ОЧІ: Обережно промити водою протягом декількох хвилин. Зняти контактні лінзи, якщо вони присутні і легко зробіть. Продовжити промивання. R333+R313: При виникненні подразнення або почервоніння шкіри: Звернутися за медичною допомогою/консультацією.
- B. Реагент.** 1 на 10 мл. Порошок М-періодату натрію 0,12 моль/л, після розведення.  
*НЕБЕЗПЕКА:* H272: Може посилити вогонь; окислювач. H301: Токсичний при ковтанні. H315: Викликає подразнення шкіри. H319: Спричиняє серйозне подразнення очей. H335: Може викликати подразнення дихальних шляхів. R301+R310: ПРИ КОВТАННІ: негайно звернутися в ТОКСИКОЛОГІЧНИЙ ЦЕНТР або до лікаря-фахівця/терапевта. R305+R351+R338: ПРИ ПОПАДАННІ В ОЧІ: Обережно промити з водою протягом декількох хвилин. Зняти контактні лінзи, якщо вони використовуються і легко знімаються. Продовжити промивання.
- C. Реагент.** 1 на 10 мл. Порошок метабісульфіту натрію 0,67 моль/л, після розведення.  
*НЕБЕЗПЕКА:* H302: Шкідливий при ковтанні. H318: Спричиняє серйозне пошкодження очей. EUH031: При контакті з кислотами виділяє токсичний газ.
- S. Стандарт.** 1 на 5 мл. Концентрація після розведення вказана на етикетці флакона. Значення концентрації перевіряється відповідно до Контрольного Стандартного Матеріалу 925 (Національний інститут стандартів і Технології, США).

Для отримання додаткових попереджень та запобіжних заходів див. паспорт безпеки продукту (SDS).

#### ЗБЕРІГАННЯ

Зберігати при 15-30 °С  
Реагенти та Стандарт стабільні до терміну придатності, зазначеного на етикетці. Зберігати щільно закритими, запобігаючи забрудненню під час користування.

#### Показники погіршення властивостей:

- Реагент: присутність зважених часток, каламутність, абсорбція бланка реагенту понад 0,050 при 360 нм.
- Мікроколони: Відсутність буфера, який покриває смолу.

#### ДОДАТКОВІ РЕАГЕНТИ

- Концентрована соляна кислота (аналітична ступінь чистоти).

#### ПРИГОТУВАННЯ РЕАГЕНТІВ

Реагенти (B) і (C): Розчинити сухий порошок в 10 мл дистильованої води. Стабільні протягом 5 місяців при 2-8 °С.  
Стандарт (S): Розчинити сухий порошок в 5 мл реагенту (3) і додати одну краплю концентрованої соляної кислоти. Стабільний протягом 5 місяців при 2-8 °С.

#### ДОДАТКОВЕ ОБЛАДНАННЯ

- Спектрофотометр або фотометр з фільтром 360 нм (358-362 нм).

#### ЗРАЗКИ

Сеча. Зразки, зібрані протягом 24 годин за стандартною процедурою. Зберігати при 2-8 °С протягом 24 годин. Зразки можуть зберігатися при 2-8 °С максимально протягом 5 днів або 1 місяць при -20 °С і доведені до рН 1-2 концентрованою соляною кислотою (HCl). Перед початком роботи зразки слід відцентрифугувати.

#### ПРОЦЕДУРА

##### Приготування зразка

1. Піпетувати в тестову пробірку (Примітка 1):

Зразок	1.0 мл
Реагент (1)	1.0 мл

##### Хроматографічне розділення

2. Зняти кришку з верхньої частини мікроколони (4) і потім відкрити нижню частину колони. Проштовхнути верхній диск на поверхню смоли, намагаючись не тиснути на нього. Дати колонці повністю стекти.
3. Помістити вміст пробірок (оброблені досліджувані зразки) в колонку і дати їм стекти.
4. Промити пробірки 2-3 мл дистильованої води і перенести в колонку. Дати стекти.
5. Додати до мікроколонки:

Реагент (2)	5.0 мл	Дати колонці повністю стекти
-------------	--------	------------------------------

6. Помістити колонки над пробірками і налити:

Реагент (3)	6.0 мл	Зібрати елюат
-------------	--------	---------------

7. Ретельно перемішайте елюат (Примітка 2).

##### Колориметрія

8. Піпетувати в підписані пробірки:

	Реагент Бланк	Стандарт	Зразок Бланк	Зразок
Елюат	-	-	1,0 мл	1,0 мл
Реагент (3)	1,0 мл	0,9 мл	-	-
Стандарт (S)	-	0,1 мл	-	-
Реагент (A)	0,4 мл	0,4 мл	0,4 мл	0,4 мл
Реагент (B)	0,1 мл	0,1 мл	-	0,1 мл

9. Ретельно перемішати і інкубувати пробірки протягом 30 хвилин при 37 °С. Потім додати:

Реагент (C)	0,1 мл	0,1 мл	0,1 мл	0,1 мл
Реагент (B)	-	-	0,1 мл	-

10. Зчитати абсорбцію (A) Зразка Бланка, Зразка та Стандарту проти Реагенту Бланка при 360 нм. Абсорбція стабільна не менше 2 годин.

#### РОЗРАХУНКИ

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

Об'єм зразка ( $V_S$ ) - 1 мл, об'єм елюата ( $V_E$ ) - 6 мл, об'єм елюата для колориметрії ( $V_{\text{EC}}$ ) - 1 мл, об'єм Стандарту для колориметрії ( $V_{\text{STC}}$ ) - 0,1 мл, концентрація Стандарту ( $C_{\text{ST}}$ ) вказано на етикетці флакона і середнє значення відтворюваності ( $R_{\text{ec}}$ ) - 0,888. Для розрахунку концентрації використовується наступна формула:

$\frac{A_{\text{Sample}} - A_{\text{Sample Blank}}}{A_{\text{Standard}}} \times C_{\text{St}}$	$\times 0.676 = C_{\text{Sample}}$
--	------------------------------------

Кількість VMA в добовій сечі розраховується за такими формулами:

mg/L VMA	$\times V_{\text{Urine/24 hours (L) =}$	mg VMA/24 hours
$\mu\text{mol/L VMA}$		$\mu\text{mol VMA/24 hours}$

### НОРМАЛЬНІ ЗНАЧЕННЯ

Сеча: <13,6 мг/24 год. = <68,6 мкмоль/24 год.

Дані величини є орієнтовними, кожна лабораторія повинна встановлювати власні прийнятні значення норми.

### КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Для проведення контролю якості тесту і процедури дослідження рекомендується використовувати Контрольну сечу (код 18036 і 18037).

Кожна лабораторія повинна виробити власну схему внутрішнього контролю якості і процедури для корекції дій в разі, якщо контроль якості не вкладається в прийнятні діапазони.

### МЕТРОЛОГІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

- Межа виявлення: 1,9 мг/л = 9,7 мкмоль/л
- Межа лінійності: 300 мг/л = 1500 мкмоль/л. Для більш високих значень розведіть зразок 1/2 дистильованою водою і повторіть вимірювання.
- Повторюваність (всередині серії):

Середня концентрація	CV	n
11,2 мг/л = 56 мкмоль/л	5.0 %	25
43,2 мг/л = 216 мкмоль/л	2.5 %	25

- Повторюваність (між серіями):

Середня концентрація	CV	n
11,2 мг/л = 56 мкмоль/л	8.6 %	25
43,2 мг/л = 216 мкмоль/л	8.2 %	25

- Чутливість: 7,50 мА · л/мг = 1,50 мА · л/мкмоль
- Достовірність: результати, отримані для зразків з додаванням VMA, не показували значних відмінностей від розрахункових теоретичних концентрацій. Деталі порівняльних експериментів доступні за запитом.
- Інтерференція: Гентизинова кислота (1000 мг/л), гомогентизинова кислота (2000 мг/л) і 5-гідроксііндолицтова кислота (50 мг/л) не впливають на результат. p-Гідроксиміндальна кислота ( $\geq 12,5$  мг/л) можуть впливати на дослідження. Деякі продукти, хімічні речовини і ліки можуть спотворювати результат.

### ДІАГНОСТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Ванілілмигдальна кислота є основним кінцевим продуктом метаболізму катехоламінів та виводиться з сечею. Вимірювання рівнів VMA відображає загальну продукцію адреналіну і норадреналіну в організмі.

Збільшення значень добової екскреції VMA пов'язане з катехоламін секретуючими нейрохромафінними пухлинами, такими як феохромоцитома, нейробластома або парагангліома.

Клінічний діагноз не повинен базуватися на результатах окремого тесту, він повинен узгоджуватися з результатами клінічних та лабораторних даних.

### ПРИМІТКИ

1. Якщо зразок зберігався підкисленим з надлишком соляної кислоти, перевірити і відрегулювати рН на рівні 6,5-7,5 з розведеним гідроксидом натрію.
2. Випробування може бути перервано в цей момент. Зберігати елюат в пробірці щільно закритим при температурі 2-8 °C протягом максимум 24 годин.



### ОФІЦІЙНИЙ ДИСТРИБ'ЮТОР

ТОВ «ДІАМЕБ»  
вул. Чорновола, 97  
м. Івано-Франківськ, 76005  
тел.: +38 (0342) 775 122  
факс: +38 (0342) 775 123  
e-mail: [info@diameb.ua](mailto:info@diameb.ua)  
[www.diameb.com](http://www.diameb.com)