


Kód 11022	40 testů	METANEFRINY  METANEFRINY PISANO
Skladování při 2 - 30°C		
Reagencie pro měření koncentrace metanefrinů Pouze pro in vitro diagnostiku v klinických laboratořích		

PRINCIP METODY

Metanefriny jsou zachyceny na katexu - pryskyřici a jsou eluovány ihned po vymytí interferujících částic. Metanefriny se stanovují spektrofotometricky jako vanilin po oxidaci v alkalickém prostředí¹.

OBSAH A SLOŽENÍ

- Reagencie.** 1 x 225 ml. Imidazolový pufr 0,4 mol/L, sodný EDTA 2,7 mmol/L, konzervant.
Nebezpečí : **H302** – Zdraví škodlivý při požití.
H315 – Dráždí kůži. **H319** – Způsobuje vážné podráždění očí.
H360 – Může poškodit reprodukční schopnost nebo plod v těle matky.
P280 – Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít. **P301 + P312** – PŘI POŽITÍ: Necítíte-li se dobře, volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO. **P332 + P313** – Při podráždění kůže: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.
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. **P281** – Používejte požadované osobní ochranné prostředky.
- Reagencie** 1 x 400 ml. Amoniak 4 mol/L.
Varování : **H315** – Dráždí kůži. **H319** – Způsobuje vážné podráždění očí. **H335** – Může způsobit podráždění dýchacích cest. **P280** – Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít. **P304 + P340** – PŘI VDECHNUTÍ: Přeneste postiženého na čerstvý vzduch a ponechte jej v klidu v poloze usnadňující dýchání. **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.
- Mikrokolony** 2 x 20 kusů. Obsahují navážené množství pufovaného katexu- pryskyřice.
- Reagencie.** 2 x 10 ml. m-Jodistan sodný prach 0,12 mol/L po rozpuštění.
Nebezpečí : **H272** – Může zesílit požár; oxidant. **H301** – Toxický při požití. **H315** – Dráždí kůži. **H319** – Způsobuje vážné podráždění očí. **H335** – Může způsobit podráždění dýchacích cest. **P301 + P310** – PŘI POŽITÍ: Okamžitě volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO nebo lékaře. **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.
- Reagencie.** 2 x 10 ml. Siřičitan sodný prach 0,67 mol/l – po rozpuštění.
Nebezpečí : **H302** – Zdraví škodlivý při požití.
H318 – Způsobuje vážné poškození očí.
EUH 031 – Uvolňuje toxický plyn při styku s kyselinami.
- Standard S.** 2 x 5 ml. Normetanefrin 100 mg/L = 550 μmol/L v kyselině HCl 0,1 mol/L. Vodný primární standard .

Pro další varování a bezpečnostní opatření čtěte bezpečnostní list (SDS)

SKLADOVÁNÍ

Skladujte při teplotě 2-30°C. Reagencie a standard jsou stabilní do data expirace uvedené na štítku, pokud jsou těsně uzavřené a je zabráněno jejich kontaminaci během jejich použití.

Známky zhoršení kvality:

Reagencie: přítomnost částic, zákal, absorbance blanku větší jak 0,060 při 360 nm v 1 cm kyvetě.

Mikrokolony: ztráta (nepřítomnost) pufru nad pryskyřicí.

PŘÍDAVNÉ REAGENCIE

Koncentrovaná kyselina chlorovodíková HCl (kvalita p.a.).

PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Reagencie B a C: Rozpusťte obsah lahvičky (suchý prach) v 10 ml destilované vody. Roztok je stabilní 5 měsíců při 2-8°C.

PŘÍDAVNÁ ZAŘÍZENÍ

- Spektrofotometr nebo fotometr s filtrem 360 nm (358-362)
- Termostabilní vodní lázeň

VZORKY

Moč. 24 h moč odebraná standardním způsobem. Kyselina boritá není přípustným konzervantem.

Vzorek je stabilní maximálně 15 dní při 2-8°C, nebo až 1 měsíc při -20°C, jestliže je upraveno pH vzorku koncentrovanou HCl pod hodnotu 3.

Před testováním vzorek centrifugujte nebo přefiltrujte.

POSTUP

Příprava vzorku

- Pipetujte do zkumavky:

Vzorek	5,0 ml
--------	--------

- Upravte pH na 0,7- 0,9 koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou.

Před testováním vzorek centrifugujte nebo přefiltrujte.

- Inkubujte vzorek 20 min. ve vařící vodní lázni. Ochlaďte pod tekoucí vodou. Pak přidejte (pozn 1):

Reagencie (1)	5,0 ml
---------------	--------

Chromatografická separace (Poznámka 2):

- Nejdříve odstraňte horní uzávěr mikrokolony (3), poté uzávěr její spodní části. Zatláče horní disk, který uzavírá pryskyřici tupým předmětem (skleněnou tyčinkou) těsně nad její povrch. Nestlačujte pryskyřici! Kapalínu nad pryskyřicí nechejte prokapat přes spodní uzávěr.

- Obsah zkumavky (vzorek) přelijte do kolony a prokapejte jej.

- Promyjte zkumavku 2-3 ml destilované vody a obsah přelijte do kolony. Nechte vykapat ven.

- Do kolony přidejte:

Destilovaná voda	10,0 mL	Ponechte volně odtékat ven
Reagencie (2)	7,5 mL	zachyťte eluát

- Promíchejte eluát (Poznámka 2)

Kolorimetrie

- Pipetujte do označených zkumavek:

	Reagent Blank	Standard Blank	Standard	Vzorek Blank	Vzorek
Eluát	-	-	-	2 mL	2 mL
Standard (S)	-	0,1 mL	0,1 mL	-	-
Reagencie (2)	2 mL	1,9 mL	1,9 mL	-	-
Reagencie (C)	-	0,05 mL	-	0,05 mL	-


- Promíchejte a přidejte:

Reagencie (B)	0,05 mL	0,05 mL	0,05 mL	0,05 mL	0,05 mL
---------------	---------	---------	---------	---------	---------

- Promíchejte, ponechte 2 minuty stát při pokojové teplotě (15-30°C). Pak přidejte:

Reagencie (C)	0,05 mL	-	0,05 mL	-	0,05 mL
---------------	---------	---	---------	---	---------

- Promíchejte a odečtěte absorbanci (A) vzorku blanku, vzorku a standardu proti blanku při 360 nm. Absorbance je stabilní nejméně po dobu 60 minut.

Kód 11022 40 testů	METANEFRINY  METANEFRINY PISANO
Skladování při 2 - 30°C	
Reagencie pro měření koncentrace metanefrinů Pouze pro in vitro diagnostiku v klinických laboratořích	

VÝPOČET

Koncentrace metanefrinů ve vzorku se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{A_{\text{vzorku}} - A_{\text{blank vzorku}}}{A_{\text{standardu}} - A_{\text{blank standardu}}} \times \frac{V_E}{V_S} \times \frac{V_{\text{StC}}}{V_{\text{EC}}} \times \frac{1}{C_{\text{St}}} \times \frac{1}{R_{\text{EC}}} = C$$

Objem vzorku (V_S) je 5 ml, objem eluátu (V_E) 7,5 ml, objem eluátu při kolorimetrickém stanovení (V_{EC}) je 2 ml, objem standardu při kolorimetrickém stanovení (V_{StC}) je 0,1 ml, koncentrace standardu (C_{St}) je 100 mg/L nebo 550 umol/L a průměrná výtěžnost (R_{EC}) = 0,98.

Následující rovnice uvádí výpočet koncentrace:

$\frac{A_{\text{vzorku}} - A_{\text{blank vzorku}}}{A_{\text{standardu}} - A_{\text{blank standardu}}}$	$\times 7,65 = \text{mg/L metanefrinů}$
	$\times 42,1 = \mu\text{mol/L metanefrinů}$

Množství metanefrinů ve 24 h vzorku moči se vypočítá podle obecného vzorce:

mg/l metanefrinů	$\times V_{\text{moče /24-h}} (\text{L}) = \text{mg metanefrinů/ 24-h}$
$\mu\text{mol/l metanefrinů}$	$\times V_{\text{moče /24-h}} (\text{L}) = \mu\text{mol metanefrinů/ 24h}$

REFERENČNÍ HODNOTY

Moč² : do 1 mg/24 h = do 5,5 umol/24 h. Tyto hodnoty jsou pouze orientační. Každá laboratoř by si měla stanovit své vlastní srovnávací hodnoty.

KONTROLA KVALITY:

Pro ověření správnosti měření se doporučuje použít močová kontrola (kat.č. 18036 nebo 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: 0,2 mg / l = 1,1 umol/L
- Linearita: Do 30,9 mg/L = 170 umol/L

- Opakovatelnost (jednoho vzorku):

Průměrná koncentrace	CV	n
0,3 mg / L = 1,5 umol/	9,8 %	25
3,8 mg / L = 21,2 umol/l	5,6 %	25

- Reprodukovatelnost

Průměrná koncentrace	CV	n
0,3 mg / L = 1,5 umol/	14,8 %	25
3,8 mg / L = 21,2 umol/l	10,0 %	25

- Citlivost: 63,8 mA . l/mg = 11,6 mA . l/ μmol
- Správnost: Výsledky získané těmito reagenty neukazují systematické rozdíly srovnatelné s teoretickými koncentracemi. Studie jsou na vyžádání k dispozici.
- Interference: Některé potravinové doplňky, substance a léky mohou interferovat⁴.

DIAGNOSTICKÁ CHARAKTERISTIKA

Metanefriny a normetanefriny označované jako metanefriny jsou močovým metabolickým produktem z katecholaminového katabolického děje.

Zvýšené hodnoty metanefrinů jsou způsobené vylučováním katecholaminů z tumorových chromafinových buněk, jako jsou: pheochromocytomy, paragangliomy a neuroblastomy^{4,5,6}. Klinická diagnóza by však neměla být uzavřena jen na základě tohoto výsledku, ale měly by být propojeny klinické a laboratorní výsledky.

POZNÁMKY

Poznámka 1. V případě koncentrovaných extrémně kyselých vzorků moče je nezbytné adjustovat pH na 5,7-7,0 hydroxidem sodným 1mol/l.

Poznámka 2. Dlouhé uskladnění kolonek vede k utlačení pryskyřice a tím i ke zpomalení jejich průtoku. Pro obnovu této funkce obraťte kolonu před stanovením na 10 minut, aby se pryskyřice přesypala. Poté kolonu umístěte do pracovní polohy a nechejte jí usadit.

Poznámka 3. Při kolorimetrickém stanovení se vyhněte prostojům při práci, protože metanefriny nejsou stabilní při pH eluátu.

LITERATURA

1. Pisano J. A simple analysis for normetanephine and metanephine in urine. Clin. Chim. Acta 1960; 5: 406-414.
2. Pesce J.A. and Kaplan L.A. Methods in Clinical Chemistry. C.V. Mosby Co, 1987.
3. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
4. Friedman and Young. Effects of disease on clinical lab. Tests, 4rd ed. AACC Press, 2001.
5. Witteles et al. Sensitivity of Diagnostic and Localization Tests for Pheochromocytoma in Clinical Practice. Arch. Intern. Med. 2000; 160:2521-2524.
6. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, WB Saunders Co, 2005.

UPOZORNĚNÍ

Překlad revidován k datu: 18.5.2020.

Vzhledem k možné inovaci výrobku Vám doporučujeme překontrolovat český překlad s originálním příbalovým letákem porovnáním podle identifikačního čísla návodu uvedeném v zápatí.

Originální návod najdete v soupravě a na internetové adrese: www.biosystems.es.

Český návod je k dispozici na: www.jktrading.cz

Výhradní distributor:

ČR : JK-Trading spol.s.r.o., Křivatcová 421/5, 150 21 Praha5, tel.: +420 257 220 760
SK : JK-Trading spol.s.r.o., Dlhá 43, 900 31, Stupava, tel.: + 421 264 774 591

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