

VANILLYLMANDELIC ACID

Determinazione cromatografico – spettrofotometrica
dell'Acido -3-metossi-4-idrossimandelico
(Acido Vanilmandelico VMA) nelle urine

20 test

REF KR12-20

USO PREVISTO

Kit per la determinazione quantitativa *in vitro* dell'acido vanilmandelico nelle urine.

PRINCIPIO DI REAZIONE

L'acido vanilmandelico viene adsorbito su una resina anionica equilibrata con un opportuno tampone. Dopo il lavaggio delle sostanze interferenti, viene eluito e determinato per via spettrofotometrica mediante ossidazione a vanillina, ottenuta con metaperiodato in ambiente alcalino.

REAGENTI E COLONNE

Contenuto del kit:

| | |
|--|------------|
| REAGENT 1 Tampone fosfato | 1 x 12 ml |
| REAGENT 2 Sodio cloruro | 1 x 110 ml |
| *REAGENT 3 Potassio carbonato | 1 x 25 ml |
| *REAGENT 4 Sodio metaperiodato (predosato) | 1 flacone |
| *REAGENT 5 Sodio metabisolfito (predosato) | 1 flacone |
| STANDARD VMA 100 mg/L | 1 x 1 ml |

AVVERTENZA: conservare ben chiuso: chiudere il flacone immediatamente dopo l'uso. Stringere forte il tappo a vite. La soluzione è a base di alcool etilico che evaporando aumenta la concentrazione dell'acido vanilmandelico con conseguente sottostima dei valori di vanilmandelico nei campioni.

COLUMN Colonne cromatografiche 20

(*) I reagenti contrassegnati con l'asterisco contengono sostanze pericolose. Leggere le Schede di sicurezza.

STABILITÀ: i reagenti sigillati e le colonne sono stabili a 2-8° C fino alla data di scadenza riportata in etichetta.

PREPARAZIONE DEI REAGENTI DI LAVORO

REAGENTE 4

Sciogliere il contenuto di un flacone di Reagent 4 con 15 ml di acqua distillata. Agitare delicatamente fino a completa solubilizzazione.

STABILITÀ: almeno 6 mesi a 2-8°C. Conservare ben chiuso.

REAGENTE 5

Sciogliere il contenuto di un flacone di Reagent 5 con 15 ml di acqua distillata. Agitare fino a completa solubilizzazione.

STABILITÀ: almeno 6 mesi a 2-8°C. Conservare ben chiuso.

CAMPIONE

Urine delle 24 ore.

Raccogliere le urine delle 24 ore, mescolarle e misurarne il volume. Conservare a 2-8°C. Se la determinazione non viene effettuata entro un giorno dalla raccolta, trasferire in una provetta 10 ml delle urine e, mescolando bene, portare il pH tra 4 e 5 con 1-2 gocce di acido acetico glaciale. Centrifugare o filtrare l'urina prima di eseguire il test.

STABILITÀ: una settimana a 2-8°C.

| | |
|-------------------|------------------------|
| Lunghezza d'onda: | 360 nm |
| Cammino ottico: | 1 cm |
| Lettura: | contro bianco reagente |
| Temperatura: | 37°C |
| Metodo: | spettrofotometrico |
| Linearità: | 125 mg/L |
| Sensibilità: | 1.5 mg/L |
| Recupero: | 98 ± 2% |
| C.V.: | 3% |

PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

Portare i reagenti a temperatura ambiente. I Reagent 1 e 3 possono presentare un precipitato: agitare bene i reagenti prima dell'uso.

Pipettare in una provetta:

| | |
|-----------|--------|
| Urina | 0.5 ml |
| Reagent 1 | 0.5 ml |

Mescolare con cura e controllare che il pH sia compreso tra 6.5 e 7.5, ed eventualmente aggiustarlo entro tale intervallo con qualche goccia di sodio idrato diluito. Il contenuto della provetta verrà utilizzato per il test.

PREPARAZIONE DELLA COLONNA

Togliere il tappo e rimetterlo. Con questa operazione si crea una pressione all'interno della colonna che aiuterà a innescare il deflusso del liquido. Indossando i guanti, spezzare la lancetta di chiusura inferiore e togliere il tappo. Lasciare defluire completamente il liquido.

SEPARAZIONE CROMATOGRAFICA

Trasferire accuratamente il contenuto della provetta del campione preparato (1 ml) in una colonna e lasciare eluire completamente il liquido. Scartare l'eluato. Pipettare nella colonna:

| | | |
|------------------|--------|-------------------|
| Acqua distillata | 2.5 ml | scartare l'eluato |
|------------------|--------|-------------------|

Porre la colonna su una provetta da 15-20 ml e pipettare nella colonna:

| | | |
|-----------|--------|----------------------|
| Reagent 2 | 1.0 ml | raccogliere l'eluato |
|-----------|--------|----------------------|

Attendere che il liquido sia completamente defluito. Aggiungere il Reagent 2 per altre 4 volte aspettando sempre che i precedenti siano completamente defluiti. Al termine si saranno raccolti 5 ml di eluato del Reagent 2.

REAZIONE COLORIMETRICA

Mescolare con cura l'eluato raccolto e pipettare in provette contraddistinte:

| | Bianco campione | Campione | Bianco reagente | Standard |
|------------|-----------------|----------|-----------------|----------|
| Eluato | 2.0 ml | 2.0 ml | --- | --- |
| Reagent 2 | --- | --- | 2.0 ml | 2.0 ml |
| Standard | --- | --- | --- | 20 µl |
| Reagent 3 | 0.5 ml | 0.5 ml | 0.5 ml | 0.5 ml |
| Reagente 4 | --- | 0.25 ml | 0.25 ml | 0.25 ml |

Mescolare bene ed incubare in bagno termostatico a 37°C per 30 minuti. Pipettare:

| | | | | |
|------------|---------|---------|---------|---------|
| Reagente 5 | 0.25 ml | 0.25 ml | 0.25 ml | 0.25 ml |
| Reagente 4 | 0.25 ml | --- | --- | --- |

Mescolare bene e leggere le assorbanze del campione (Ac), del bianco campione (Abc) e dello standard (Ast) a 360 nm azzerando contro il bianco reagente.

CALCOLO

VMA (mg/L) = (Ac - Abc)/Ast x 10

VMA (mg/24 ore) = mg acido vanilmandelico/L x L di urine 24 ore

VALORI DI RIFERIMENTO

Urine delle 24 ore:

adulti 1 - 11 mg/24 ore

bambini 0.10 - 0.18 mg/Kg peso corporeo/24 ore

Rapporto acido vanilmandelico/creatinina:

adulti 1-8 mg di VMA/g di creatinina nelle urine

bambini 2-12 mg di VMA/g di creatinina nelle urine

OSSERVAZIONI

- Non sono richieste particolari restrizioni nella dieta precedente la raccolta delle urine, in quanto con il bianco campione si sottrae il contributo della vanillina di origine alimentare, causa di dosaggi falsamente elevati.
- Alcuni farmaci influenzano l'eliminazione urinaria di acido vanilmandelico:
 - valori aumentati si ritrovano dopo somministrazione di insulina, reserpina, adrenalina, noradrenalina
 - valori più bassi si ritrovano dopo somministrazione di morfina, pentobarbitale, clorpromazina, iproniazide.In entrambi i casi occorre correggere i risultati come segue:
 $VMA (mg/L) = [(A360 C - A 360 BC) - (A 380 C - A 380 BC)] / (A 360 ST - A 380 ST) \times 10$
Eseguire le letture entro 60 minuti dalla fine della reazione.
- Il rapporto acido vanilmandelico/creatinina nelle urine permette di effettuare la determinazione sulle urine di una singola minzione, e può fornire risultati abbastanza precisi, con le dovute limitazioni, ai fini di uno screening. La determinazione sulle urine delle 24 ore è comunque preferibile, ed è necessaria nel caso in cui il rapporto acido vanilmandelico/creatinina sia al limite o leggermente al di sopra dei valori normali.

BIBLIOGRAFIA

- D. Wybenga et V.J. Pileggi, "Clin. Chim. Acta", 16 (1), 147-154 (1966)

LEGENDA SIMBOLI

| | |
|--|---|
| | dispositivo medico diagnostico in vitro |
| | numero di lotto |
| | numero di catalogo |
| | limite di temperatura |
| | usare entro la data |
| | attenzione |
| | consultare le istruzioni per l'uso |

IVD

CE

Ed. 02 - Jan 2024 RR

PRODUTTORE



FAR

Via Fermi, 12 - 37026 Pescantina - VERONA - ITALY

tel +39 045 6700870 - sito web <http://www.farddiag.com>

e-mail: order@farddiag.com - e-mail: farddiag@farddiag.com