

Holdbarhed af 5-HIAA og VMA i urin

Eddikesyre anbefales til stabilisering af uriner

Der er ikke enighed blandt de klinisk biokemiske afdelinger i Danmark om, hvordan døgnuriner skal opsamles og analytterne stabiliseres. Der anvendes derfor opsamling i enten saltsyre, svovlsyre eller eddikesyre på hospitalerne i Danmark. Det er tidligere publiceret (1), at 5-HIAA ikke er stabilt, hvis pH er mindre end 2,0, hvilket kan forekomme, hvis der er anvendt stærke syrer (saltsyre eller svovlsyre), og diuresen er lav. Vi ønskede derfor at lave en grundig undersøgelse af stabiliteten af 5-HIAA og VMA under forskellige opbevaringsbetingelser.

Indikation

5-hydroxyindolacetat (5-HIAA) er en metabolit af serotonin, og bestemmelse af 5-HIAA i døgnurin udføres for at diagnosticere carcinoide tumorer.

Vanillylmandelat (VMA) er en metabolit af catecholaminerne, og bestemmelse af VMA i døgnurin udføres for at diagnosticere fæokromocytom eller neuroblastom.

Metode

Der blev anvendt to urinpools, der fra starten blev justeret til henholdsvis pH 4,5 og pH 8,0 som udtryk for ekstremer af naturligt forekommende urin-pH-værdier. Ud fra hver af disse to pools blev stabiliteten af såvel spiket som uspiket urin undersøgt ved stuetemperatur/køleskab samt ved 7 forskellige stabiliseringsmetoder (saltsyre, eddikesyre, ingen syre), se Tabel 1. Urinerne blev opbevaret i alt 14 dage.

TABEL 1: Opbevaringsbetingelser

Uden syre
1000 µl HAC + 4 ml urin
200 µl HAC + 4 ml urin
100 µl HAC + 4 ml urin
500 µl HCl + 4 ml urin
100 µl HCl + 4 ml urin
50 µl HCl + 4 ml urin

HAC: 24 % eddikesyre.

HCl: 20 % saltsyre.

Materiale og metode:

Instrumenter: Hamilton Starlet robot, Waters UPLC iClass, Waters Xevo TQ-S.

Prøveforberedelse: 850 µL vand afpipetteres i en mikrotiterplade. Der tilsættes 50 µL kalibrator/kontrol/prøve samt 100 µL Intern standard med deutereret 5-HIAA og deutereret VMA.

Kalibratores: 0,5 M eddikesyre tilsat 5-HIAA og VMA.

Intern kvalitetskontrol: Biorad Normal (Lyphochek Quantitative Urine Kontrol) og Lyphochek Quantitative Urine Kontrol (Biorad Abnormal).

Ekstern kvalitetskontrol: UK NEQAS for Urinary Catecholamines.

Prøver til bedømmelse af koncentrationen af 5-HIAA og VMA blev analyseret som enkeltbestemmelse på analysedagene. Den intermedie præcision for analysen er ca. 5 % for begge de anvendte niveauer af 5-HIAA og ca. 8 % og 5 % for henholdsvis det lave og det høje VMA-niveau. En reel forskel mellem koncentrationen i de opbevarede prøver skal derfor overstige $2 \times CV_{\text{anal}} \times \sqrt{2}$, for at den med sikkerhed kan måles. For prøverne i det spikede niveau skal forskellen altså overstige 14 %.

Vi har på denne baggrund valgt at sætte kravet til den maksimale ændring, der må finde sted under opbevaring, til 14 %.

Resultater:

Såvel 5-HIAA som VMA viste sig at være stabilt i køleskab i 14 døgn uanset stabiliseringsmetode. Ved stuetemperatur var VMA stabilt i 14 døgn, mens 5-HIAA viste sig at være ustabil navnlig ved tilsætning af den største mængde saltsyre, hvor pH i prøven kom ned under 1,0. Ved denne laveste pH var den maksimale opbevaring for 5-HIAA ved stuetemperatur 2 døgn. Ved pH-værdier over 1,0 var 5-HIAA stabilt ved stuetemperatur i minimum 8 døgn. Pga. de små ændringer i koncentrationer over tid er kun de spikede uriner vist i kurverne. Desuden er der kun medtaget kurver for 5-HIAA, da VMA var stabilt.

Konklusion:

Opbevaringsbetingelserne viste at have mindre indflydelse på stabiliteten end forventet. Dog bør saltsyre undgås til opsamling af 5-HIAA, da en dunk til døgnurin typisk opbevares i stuetemperatur, og da pH i den opsamlede urin i starten kan være meget lav. Vi foreslår, at der fremover opnås enighed i hele landet om at anvende samme stabiliseringsmetode ved opsamling af døgnurin til 5-HIAA og VMA. Vi anbefaler, at der bliver anvendt eddikesyre til stabilisering af urinerne.

(1) VAN HAARD PMM, WIELDERS JPM, WIKKERINK JBW. DIRECT CONCURRENT MEASUREMENT OF URINARY VANILLYLMANDELIC ACID, 5-HYDROXY-INDOLEACETIC ACID AND HOMOVANILLIC ACID BY HPLC. THREE METHODOLOGIES COMPARED. BIOMEDICAL CHROMATOGRAPHY, VOL. 2, NO. 5, 1987, 209



Af bioanalytiker //

Line Zanoni



Af bioanalytiker //

Susan Peyk Sørensen

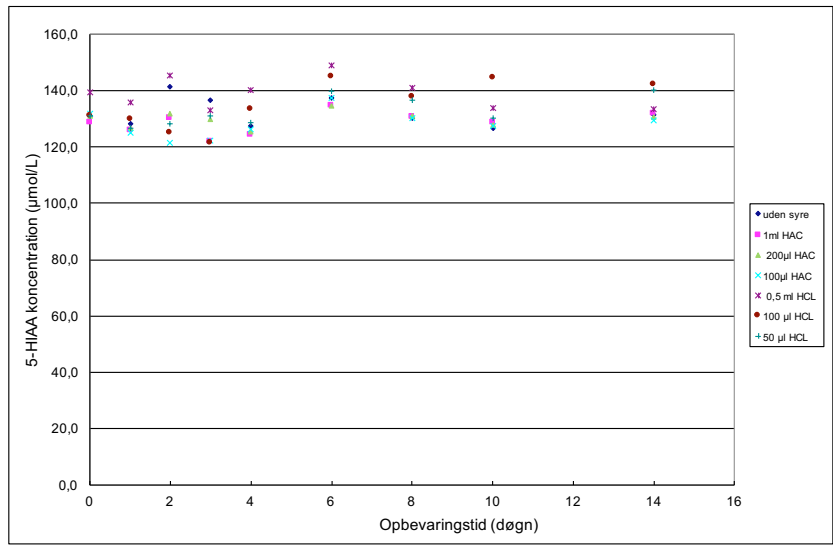


Af biokemiker //

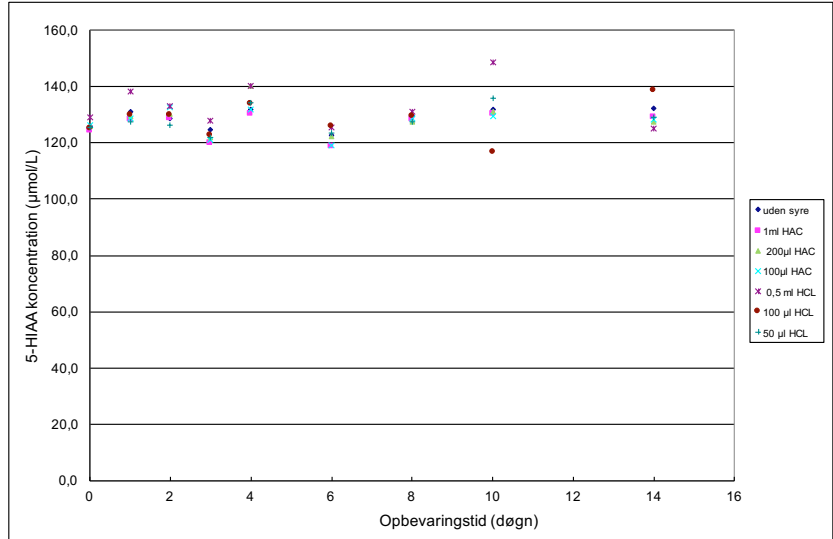
Anne Schmedes

5-Hiaa

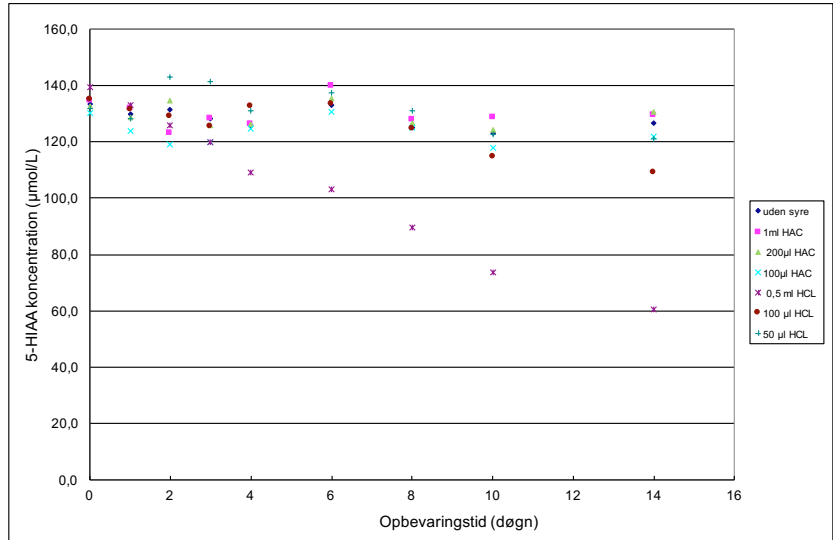
Urin, køleskab,
start pH 8,0



Urin, køleskab,
start pH 4,5



Urin,
stuetemperatur,
start pH 8,0



Urin,
stuetemperatur,
start pH 4,5

