



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
1983/2023 - 40 AÑOS DE DEMOCRACIA

Disposición

Número:

Referencia: 1-0047-3110-008053-22-2

VISTO el Expediente N° 1-0047-3110-008053-22-2 del Registro de esta Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), y:

CONSIDERANDO:

Que por las presentes actuaciones JENCK S.A. solicita se autorice la inscripción en el Registro Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM) de esta Administración Nacional, de un nuevo/s Producto/s Médico/s para diagnóstico in vitro.

Que en el expediente de referencia consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos para Diagnóstico in vitro que establece que los productos reúnen las condiciones de aptitud requeridas para su autorización .

Que se ha dado cumplimiento a los términos que establecen la Ley N° 16.463, Resolución Ministerial N° 145/98 y Disposición ANMAT N° 2674/99 y normas complementarias.

Que el Instituto Nacional de Productos Médicos ha tomado la intervención de su competencia.

Que corresponde autorizar la inscripción en el RPPTM del producto médico objeto de la solicitud.

Que la presente se dicta en virtud de las facultades conferidas por los Decretos N° 1490/92 y sus modificatorias.

Por ello;

EL ADMINISTRADOR NACIONAL DE LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL
DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA

DISPONE:

ARTÍCULO 1°.- Autorízase la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM) de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) del producto médico para diagnóstico de uso in vitro de acuerdo con lo solicitado por JENCK S.A. con los Datos Característicos que figuran al pie de la presente.

ARTÍCULO 2°.- Autorízase los textos de los proyectos de rótulo/s y de instrucciones de uso que obran en documento GEDO N° IF-2023-108232719-APN-INPM#ANMAT .

ARTÍCULO 3°.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda "Autorizado por la ANMAT PM 2188-9 ", con exclusión de toda otra leyenda no contemplada en la normativa vigente.

ARTICULO 4°.- Extiéndase el Certificado de Autorización e Inscripción en el RPPTM con los datos característicos mencionados en esta disposición.

ARTÍCULO 5°.- La vigencia del Certificado de Autorización será de cinco (5) años, a partir de la fecha de la presente disposición.

ARTÍCULO 6°.- Regístrese. Inscríbase en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica al nuevo producto. Por el Departamento de Mesa de Entrada, notifíquese al interesado, haciéndole entrega de la presente Disposición, conjuntamente con rótulos e instrucciones de uso autorizados y el Certificado mencionado en el artículo 4°. Gírese a la Dirección de Gestión de Información Técnica a los fines de confeccionar el legajo correspondiente. Cumplido, archívese.

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS

Nombre descriptivo: Kit de reactivos para el análisis por HPLC de metanefrinas en orina.

Marca comercial: ChromSystems Instruments & Chemicals GmbH

Modelos:

2020 Metanephrines in urine.

2010 Tubes with screw caps for hydrolysis

2021 Mobile Phase

2022 Mobile Phase (10x)

2024 Internal Standard

2025 Neutralisation Buffer

2026 Wash Buffer
2027 Elution Buffer
2028 Sample Clean Up Columns
2044/HR Internal Standard/High Resolution
2099 Interference Mix Metanephrine; para la identificación de interferencias
2120 HPLC Column
18002 Precolumn cartridge 4/10
2023 Calibration Standard
2009 Urine Calibration Standard
0040 Endocrine Urine Control, Normal Range
0050 Endocrine Urine Control, Pathological Range

Indicación/es de uso:

El kit de reactivos de Chromsystems Metanefrinas en orina es un producto de diagnóstico in-vitro para su uso en laboratorios clínicos que sirve para el análisis cuantitativo de la metanefrina, normetanefrina y 3-metoxitiramina en muestras de orina de pacientes mediante HPLC (cromatografía líquida de alta eficacia con detección electroquímica). El kit se emplea para realizar pruebas a pacientes de los que se sospecha que puedan padecer tumores productores de catecolaminas.

Este kit de reactivos permite el análisis fiable de metanefrina, normetanefrina y 3-metoxitiramina en orina por HPLC. Dado que las metanefrinas están presentes principalmente en forma de conjugados (glucuronidos o sulfatos), se realiza una hidrólisis ácida previa para separarlas. El pH necesario para la extracción en fase sólida siguiente se ajusta automáticamente al añadir el Neutralisation Buffer; si el indicador de pH añadido a la mezcla vira de amarillo a violeta indica que el ajuste de pH es correcto. Para el análisis cromatográfico se precisa un sistema de HPLC isocrático con detector electroquímico. La columna de separación optimizada y la fase móvil garantizan una separación segura de posibles interferencias.

Estos productos se utilizan con todos los reactivos de la marca ChromSystems Instruments & Chemicals GmbH

Forma de presentación: Para 100 análisis:

2020 Kit de reactivos para el análisis por HPLC de metanefrinas en orina, para 100 análisis:
2021 Mobile Phase 1000 ml
2023 Calibration Standard 10 ml
2024 Internal Standard 10 ml
2025 Neutralisation Buffer 2 x 300 ml
2026 Wash Buffer 2 x 250 ml
2027 Elution Buffer 2 x 250 ml
2028 Sample Clean Up Columns 100 unidades

Componentes disponibles individualmente para 100 análisis

2021 Mobile Phase 1000 ml
2022 Mobile Phase 10 x 1000 ml (1000 análisis)
2023 Calibration Standard 10 ml
2009 Urine Calibration Standard 5 x 5 ml (liof.)
2024 Internal Standard 10 ml
2044/HR Internal Standard/High Resolution 10 ml
2025 Neutralisation Buffer 2 x 300 ml
2026 Wash Buffer 2 x 250 ml

2027 Elution Buffer 2 x 250 ml
2028 Sample Clean Up Columns 100 unidades
0040 Endocrine Urine Control, rango normal 10 x 8 ml (liof.)
0050 Endocrine Urine Control, rango patológico 10 x 8 ml (liof.)

Accesorios para 100 analisis.

2120 Columna de HPLC, equilibrada y certificada con cromatograma 1 unidad
15009 Prefiltro PEEK, 5 µm 5 unidades
15010 Prefiltro de carcasa PEEK 1 unidad
18001 Soporte para cartuchos de precolumna 4/10 1 unidad
18002 Cartucho de precolumna 4/10 1 unidad
2010 Tubos de plástico para hidrólisis con tapón de rosca 50 unidades
2099 Interference Mix Metanephine 10 ml

Período de vida útil y condición de conservación: 36 meses

2020 Kit de reactivos para el análisis por HPLC de metanefrinas en orina: Desmontar el embalaje y almacenar cada componente individualmente según su indicación.

2021 Mobile Phase: +18 / +30 °C

2023 Calibration Standard: +2 / +8 °C

2024 Internal Standard: +2 / +8 °C

2025 Neutralisation Buffer: +18 / +30 °C

2026 Wash Buffer: +18 / +30 °C

2027 Elution Buffer: +18 / +30 °C

2028 Sample Clean Up Columns: +18 / +30 °C

2022 Mobile Phase 10x: +18 / +30 °C

2009 Urine Calibration Standard: < -18 °C

2044/HR Internal Standard/High Resolution: +2 / +8 °C

0040 Endocrine Urine Control, Normal Range: +2 / +8 °C

0050 Endocrine Urine Control, Phatological Range: +2 / +8 °C

2120 Columna de HPLC: +18 / +30 °C

15009 Prefiltro PEEK, 5 µm Sin especificacion de temperatura.

15010 Prefiltro de carcasa PEEK 1 Sin especificacion de temperatura.

18001 Soporte para cartuchos de precolumna 4/10: +18 / +30 °C

18002 Cartucho de precolumna 4/10 +18 / +30 °C

2010 Tubos de plástico para hidrólisis con tapón de rosca. Sin especificacion de temperatura.

2099 Interference Mix Metanephine: +18 / +30 °C

Nombre del fabricante:

ChromSystems Instruments & Chemicals GmbH

Lugar de elaboración:

Am Haag12, 82166 Grafelfing, Alemania.

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

Expediente N° 1-0047-3110-008053-22-2

N° Identificador Trámite: 44506

AM

Digitally signed by GARAY Valéria Teresa
Date: 2023.09.28 16:32:45 ART
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL
ELECTRONICA - GDE
Date: 2023.09.28 16:32:48 -03:00

PROYECTOS DE RÓTULO EXTERNO

Nota: por art. 1° de la **Disposición n° 4043/2005ANMAT**, se acepta el uso de los 24 símbolos descritos y definidos en el Anexo I de la citada norma en reemplazo del texto de la información requerida en la presente Disposición en los rótulos de los productos para diagnóstico de uso in vitro.

RÓTULO ORIGINAL DEL PRODUCTO

Kit label

CHROMSYSTEMS
Chromsystems Instruments & Chemicals GmbH - Am Haag 12 - 82166 Gräfelfing/Germany
Phone +49 89 18930-0 · mailbox@chromsystems.com · www.chromsystems.com

HPLC Reagent Kit
Metanephrines
in urine

For 100 analyses

REF 2020

2023-09-01

00-08-00
2035580-00

LOT

IVD

CE

(01) 04260317 50697 1
(10) 2035580-00
(17) 230901
(240) 2020


DE-Diese Transportverpackung enthält Gefahrstoffe. Bitte beachten Sie die Gefahren- und Sicherheitshinweise auf den Produktetiketten.

EN-This shipping package contains hazardous substances. Please pay attention to the hazard and precautionary statements on the product labels.

FR-Cet envoi contient des substances dangereuses. Veuillez faire attention aux mentions de danger et conseils de prudence indiqués sur l'étiquette des produits.

IT-La confezione contiene sostanze pericolose. Vi preghiamo prendere nota delle frasi di rischio e precauzione riportate sulle etichette dei prodotti.

ES-Este embalaje de transporte contiene sustancias peligrosas. Por favor, prestar atención a las indicaciones de peligro y a los consejos de prudencia que figuran en las etiquetas del producto.



RÓTULO LOCAL (PUESTO POR EL IMPORTADOR/DISTRIBUIDOR EN ARGENTINA)




JENCK S.A.
Álvarez Thomas N° 228, CABA director técnico: Genaro Pasetti
Autorizado por ANMAT- PM 2188-9
USO PROFESIONAL EXCLUSIVO - VENTA EXCLUSIVA A LABORATORIOS DE
ANÁLISIS CLÍNICOS

PROYECTOS DE RÓTULO INTERNO

Nota: por art. 1° de la **Disposición n° 4043/2005ANMAT**, se acepta el uso de los 24 símbolos descritos y definidos en el Anexo I de la citada norma en reemplazo del texto de la información requerida en la presente Disposición en los rótulos de los productos para diagnóstico de uso in vitro.


GENARO PASETTI
Firma: Genaro Pasetti
Mat. N°: 15.190




RÓTULO ORIGINAL DEL PRODUCTO

Nombre del Producto	#1
Número de lote o partida	LOT
Fecha de Vencimiento	
Indicación de las unidades métricas, tales como volumen, peso, actividad u otra unidad característica de cada componente del producto	#2
Indicación de las condiciones adecuadas de almacenamiento y transporte del producto	#3 
Reactivo de diagnóstico de uso in vitro	IVD
Consultar las instrucciones	



item	Ref.	#1	#2	#3
1)	2020		100 analysis	
2)	2021	Mobile phase	1000 ml	+18 / +30
3)	2023	Calibration standard metanephrines	10 ml	+2 / +8
4)	2024	Internal standard metanephrines	10 ml	+2 / +8
5)	2044HR	Internal standard metanephrines High Resolution	10 ml	+2 / +8
6)	2025	Neutralization buffer	300 ml	+18 / +30
7)	2026	Wash buffer	250 ml	+18 / +30
8)	2027	Elution buffer	250 ml	+18 / +30
9)	2028	Sample clean up columns	100 pcs	+18 / +30
10)	2009	Urine calibration standard	Reconstituir con 5 ml	/ -18
11)	0040	Endocrine urine control normal range	Reconstituir con 8 ml	+2 / +8
12)	0050	Endocrine urine control pathological range	Reconstituir con 8 ml	+2 / +8


 GERARDO BIGGETTI
 FARM. Director Técnico
 Matr. Reg. 15108



Mobile Phase - 2021

<p>Warning</p> <p>Flammable liquid and vapour.</p> <p>Keep away from heat, hot surfaces, sparks, open flames and other ignition sources. No smoking. Use explosion-proof electrical/ventilating/lighting equipment. Take precautionary measures against static discharge. Wear protective gloves/eye protection.</p>		<p>CHROMSYSTEMS</p> <p>Chromsystems Instruments & Chemicals GmbH · Am Haag 12 · 82166 Gräfelfing/Germany Phone +49 89 18930-0 · mailbox@chromsystems.com · www.chromsystems.com</p>	 (01) 0 4250317 50308 4 (10) 1319 (17) 220301 (240) 2021	<p> 2022-03-01</p>
				<p>Mobile Phase</p> <p>Metanephrines</p> <p>in urine</p> <p>1000 ml</p>



Calibration Standard – 2023

<p>CHROMSYSTEMS</p> <p>Chromsystems Instruments & Chemicals GmbH Am Haag 12 · 82166 Gräfelfing/Germany · Phone +49 89 18930-0</p>	 (01) 0 4250217 50211 4 (10) 2919 (17) 220731 (240) 2023	<p> 2022-07-01</p>



Calibration Standard – 2023

<p>CHROMSYSTEMS</p> <p>Chromsystems Instruments & Chemicals GmbH Am Haag 12 · 82166 Gräfelfing/Germany · Phone +49 89 18930-0</p>	 (01) 0 4250217 50211 4 (10) 2919 (17) 220731 (240) 2023	<p> 2022-07-01</p>

Internal Standard High Resolution - 2044/HR



<p>CHROMSYSTEMS</p> <p>Chromsystems Instruments & Chemicals GmbH Am Haag 12 · 82166 Gräfelfing/Germany · Phone +49 89 18930-0</p>	 (01) 0 4250317 51027 0 (10) 2919 (17) 220731 (240) 2044/HR	<p> 2022-07-01</p>

Neutralisation Buffer - 2025



<p>CHROMSYSTEMS</p> <p>Chromsystems Instruments & Chemicals GmbH · Am Haag 12 · 82166 Gräfelfing/Germany Phone +49 89 18930-0 · mailbox@chromsystems.com · www.chromsystems.com</p>	 (01) 0 4250317 50316 9 (10) 1319 (17) 220301 (240) 2025	<p> 2022-03-01</p>


 GENARO PASSETTI
 Farm. - Special Technico
 Mul. Dep. 15100


Wash Buffer - 2026

<p>May be corrosive to metals. Causes skin irritation. Causes serious eye irritation.</p> <p>Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection. IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water. IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses if present and easy to do. Continue rinsing. If skin irritation occurs: Get medical advice/attention. If eye irritation persists: Get medical advice/attention.</p>		<p>CHROMSYSTEMS</p> <p><small>Chromsystems Instruments & Chemicals GmbH - Am Haag 12 - 82166 Grafelfing / Germany Phone +49 89 18930-0 - mailbo@chromsystems.com - www.chromsystems.com</small></p>	 <p>(01) 0 4250317 50319 0 (10) 1519 (17) 220401 (240) 2026</p>	<p>2022-04-01</p> <p>LOT 1519</p> <p>+30°C +18°C</p> <p>IVD</p> <p>CE</p>
				<p>Warning</p> <p>250 ml</p> <p>REF 2026</p>


Elution Buffer - 2027

<p>Warning</p> <p>May be corrosive to metals. Causes skin irritation. Causes serious eye irritation.</p> <p>Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection. IF ON SKIN: Wash with plenty of water. IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing. If skin irritation occurs: Get medical advice/attention. If eye irritation persists: Get medical advice/attention.</p> <p>contains sodium hydroxide</p>		<p>CHROMSYSTEMS</p> <p><small>Chromsystems Instruments & Chemicals GmbH - Am Haag 12 - 82166 Grafelfing / Germany Phone +49 89 18930-0 - mailbo@chromsystems.com - www.chromsystems.com</small></p>	 <p>(01) 0 4250317 50324 4 (10) 1519 (17) 220401 (240) 2027</p>	<p>2022-04-01</p> <p>LOT 1519</p> <p>+30°C +18°C</p> <p>IVD</p> <p>CE</p>
				<p>Elution Buffer</p> <p>Metanephrines in urine</p> <p>250 ml</p> <p>REF 2027</p>

Sample Clean Up Columns - 2028

<p>CHROMSYSTEMS</p> <p><small>Chromsystems Instruments & Chemicals GmbH - Am Haag 12 - 82166 Grafelfing / Germany Phone +49 89 18930-0 - mailbo@chromsystems.com - www.chromsystems.com</small></p>	<p>(01) 0 4250317 50326 8 (10) 3019 (17) 220701 (240) 2028</p> 	<p>2022-07-01</p> <p>LOT 3019</p> <p>+30°C +18°C</p> <p>IVD</p> <p>CE</p>

Urine Calibration Standard– primary container - 2009

<p>CHROMSYSTEMS</p> <p><small>Chromsystems Instruments & Chemicals GmbH - Am Haag 12 - 82166 Grafelfing / Germany - Phone +49 89 18930-0</small></p>	<p>(01) 0 4250317 50293 3 (10) 4319 (17) 221001 (240) 2009</p> 	<p>2022-10-01</p> <p>LOT 4319</p> <p>+18°C</p> <p>IVD</p> <p>CE</p>

[Handwritten signature]

GENARO FASSETTI
Farm. - District Technician
Mil. Reg. 15198

Urine Calibration Standard– secondary container - 2009

CHROMSYSTEMS
Chromsystems Instruments & Chemicals GmbH · Am Haag 12 · 82166 Gröbelfing/Germany
Phone +49 89 189300 · mail@chromsystems.com · www.chromsystems.com

(01) 0 4250317 50283 3
(10) 4319
(17) 221001
(240) 2009

2022-10-01
LOT 4319
-18°C
i
IVD
REF 2009 CE

Urine Calibration Standard
Metanephrines
in urine
5 x 5.0 ml (lyoph.)

Endocrine Urine Control normal range – primary container - 0040

CHROMSYSTEMS
Chromsystems Instruments & Chemicals GmbH
Am Haag 12 · 82166 Gröbelfing/Germany · Phone +49 89 189300

(01) 0 4250317 54303 0
(10) 4919
(17) 221001
(240) 0040

2022-12-01
LOT 4919
+8°C
-2°C
i
IVD
REF 0040 CE

Endocrine Urine Control
Normal Range
Reconstitute with 8.0 ml dist. water

Endocrine Urine Control normal range – secondary container - 0040

CHROMSYSTEMS
Chromsystems Instruments & Chemicals GmbH · Am Haag 12 · 82166 Gröbelfing/Germany
Phone +49 89 189300 · mail@chromsystems.com · www.chromsystems.com

(01) 0 4250317 50727 3
(10) 3719
(17) 220901
(240) 0040

2022-09-01
LOT 3719
+8°C
+2°C
i
IVD
REF 0040 CE

Endocrine Urine Control
Normal Range
10 x 8.0 ml (lyoph.)

Endocrine Urine Control pathological range – primary container - 0050

CHROMSYSTEMS
Chromsystems Instruments & Chemicals GmbH
Am Haag 12 · 82166 Gröbelfing/Germany · Phone +49 89 189300

(01) 0 4250317 54379 0
(10) 4919
(17) 221001
(240) 0050

2022-12-01
LOT 4919
+8°C
+2°C
i
IVD
REF 0050 CE

Endocrine Urine Control
Pathological Range
Reconstitute with 8.0 ml dist. water


GENARO PASETTI
Farm. Dir. Tecnico
Mod. Spec. 15/06

Endocrine Urine Control pathological range – secondary container - 0050

CHROMSYSTEMS
Chromsystems Instruments & Chemicals GmbH - Am Haag 12 - 82166 Grafelfing/Germany
 Phone +49 89 18930-0 mail@chromsystems.com www.chromsystems.com

(01) 0 4250317 51095 2
 (10) 3719
 (17) 220901
 (240) 0050

2022-09-01
LOT 3719
 +8°C
 +2°C
 IVD
REF 0050 **CE**

**Endocrine Urine Control
 Pathological Range**

10 x 8.0 ml (lyoph.)

HPLC Column – secondary label – 2120

CHROMSYSTEMS
Chromsystems Instruments & Chemicals GmbH - Am Haag 12 - 82166 Grafelfing/Germany
 Phone +49 89 18930-0 mail@chromsystems.com www.chromsystems.com

(01) 0 4250317 50233 0
 (10) 2719
 (11) 190703
 (240) 2120

2019-07-03
LOT 2719
 +30°C
 +18°C
 IVD
REF 2120 **CE**

**HPLC Column
 Metanephrines
 in urine**

1 pc. - equilibrated and tested

Interference Mix - 2099

CHROMSYSTEMS
Chromsystems Instruments & Chemicals GmbH - Am Haag 12 - 82166 Grafelfing/Germany - Phone +49 89 18930-0

(01) 0 4250317 53329 9
 (10) 4319
 (17) 221001
 (240) 2099

2022-10-01
LOT 4319
 +8°C
 +2°C
 IVD
REF 2099 **CE**

Interference Mix
 Octopamine, p-Tyramine, m-Synephrine, p-Synephrine (each 250 µg/l)

Metanephrines in urine

10 ml

HPLC Column – primary label - 2120

REF 2120 **2019-07-17**
LOT 2919 **SN 01** **IVD** **CE**

**HPLC Column
 Metanephrines in urine**

flow direction →

CHROMSYSTEMS
Chromsystems Instruments & Chemicals GmbH
 Am Haag 12
 82166 Grafelfing/Germany
 www.chromsystems.com
 Phone: +49 89 18930-0

Tubes with screw caps for hydrolysis - 2010

CHROMSYSTEMS
Chromsystems Instruments & Chemicals GmbH - Am Haag 12 - 82166 Grafelfing/Germany
 Phone +49 89 18930-0 mail@chromsystems.com www.chromsystems.com

(01) 0 4250317 50295 7
 (10) 4319
 (11) 191022
 (240) 2010

2019-10-22
LOT 4319
 +8°C
 +2°C
 IVD
REF 2010 **CE**

**Tubes with screw caps for hydrolysis
 Metanephrines
 in urine**

50 pcs.

Precolumn cartridge 4/10 - 18002

CHROMSYSTEMS
Chromsystems Instruments & Chemicals GmbH - Am Haag 12 - 82166 Grafelfing/Germany - Phone +49 89 18930-0

(01) 0 4250317 51975 1
 (10) 2720
 (11) 203528
 (240) 18002

2020-06-29
LOT 2720
 +30°C
 +18°C
 IVD
REF 18002 **CE**

**Precolumn Cartridge 4/10
 Metanephrines in urine**

1 pc.

Genaro Fasetti
 GENARO FASSETTI
 Farm., Director Technical
 Mail: Gen.Fasetti@chromsystems.com

PROYECTO DE MANUAL DE INSTRUCCIONES

Ver adjunto Instrucciones de Uso del Producto.



GENARO PASETTI
Fam. Director Técnico
Mat. Reg. 15198

CHROMSYSTEMS®

DIAGNOSTICS BY HPLC & LC-MS/MS

BIOGENE AMINE
BIOGENIC AMINES
AMINES BIOGÈNES
AMMINE BIOGÈNE
AMINAS BIÓGENAS

Manual de instrucciones para el análisis por HPLC

Metanefrinas en orina

Número de pedido 2020




GENARO PASETTI
Firma - Director Técnico
Mód. Téc. 151/98

CE IVD



GENARO PASETTI
FARM. - Direttore Tecnico
Med. Farm. 19/08

Chromsystems Instruments & Chemicals GmbH está certificada de acuerdo con las normas DIN EN ISO 9001, DIN EN ISO 13485 y ISO 13485 CMDR. Los productos se producen y distribuyen de acuerdo con la Directiva 98/79/CE sobre productos sanitarios para diagnóstico in vitro.

© This document is protected by copyright. All rights reserved.

Chromsystems Instruments & Chemicals GmbH
Am Haag 12
82166 Gräfelfing
Alemania

Tel.: +49 89 18930-0
Fax: +49 89 18930-299
www.chromsystems.com

Índice.....	Página
1 Información sobre el pedido	4
2 Introducción.....	6
3 Fundamentos de la detección electroquímica.....	8
3.1Principio	8
3.2.....Influencia del potencial de trabajo en la detección electroquímica.....	8
3.3.....Optimización del potencial de trabajo	9
4 Sistema HPLC.....	10
4.1Puesta en funcionamiento	10
4.2.....Ajustes del aparato.....	11
4.3.....Columna de HPLC	11
4.4.....Mantenimiento y cuidados del sistema HPLC.....	12
4.4.1... Pasivar la bomba y los capilares.....	12
4.4.2... Limpieza del electrodo de trabajo ("activación")	12
4.4.3... Mantenimiento del electrodo de referencia.....	13
4.4.4... Evitar pulsaciones de la bomba	13
4.4.5... Pausas en el funcionamiento	13
5 Preparación de la muestra	14
5.1Colección y conservación de las muestras de orina	14
5.2.....Reconstitución de los estándares de calibración de orina	14
5.3.....Reconstitución de los controles de orina	15
5.4.....Hidrólisis ácida de las muestras de orina	15
5.5.....Extracción de la muestra	16
5.6.....Esquema de preparación de las muestras.....	17
5.7.....Estabilidad de las muestras preparadas.....	17
6 Adquisición y evaluación de datos	18
6.1Calibración del sistema de cálculo.....	18
6.2.....Análisis cuantitativo con estándar interno.....	19
7 Control de calidad	19
8 Rangos de referencia	20
9 Factores de conversión	20
10 Almacenamiento y caducidad de los reactivos	21
11 Tratamiento de los residuos.....	21
12 Ejemplos de cromatogramas	22
12.1Cromatograma de un estándar de calibración acuoso	22
12.2.....Cromatograma de un control de orina (rango patológico)	22
12.3.....Cromatograma de la muestra de un paciente	23
12.4.....Cromatograma de una muestra de paciente con el estándar interno alternativo (n° art. 2044/HR).....	23
13 Interferencias conocidas	24
14 Localización y resolución de problemas.....	24
15 Bibliografía.....	27



GENARO PASETTI
Firma
Director Técnico
Mar. Apr. 1999

Índice Página

Apéndice I:	Preparación automatizada de muestras con Gilson® ASPEC™	28
Apéndice II:	Observaciones sobre las sustancias peligrosas	31
Apéndice III:	Nota para el cálculo manual	32
Apéndice IV:	Datos de validación	33
Apéndice V:	Declaración de conformidad.....	35



GENARO BISSETTI
Firma: Director Técnico
Mat. Exp. 15109

1 Información sobre el pedido

N° de pedido	Producto	
2020	Kit de reactivos para el análisis por HPLC de metanefrinas en orina Contenido del kit para 100 análisis:	
	Mobile Phase	1000 ml
	Calibration Standard	10 ml
	Internal Standard	10 ml
	Neutralisation Buffer	2 x 300 ml
	Wash Buffer	2 x 250 ml
	Elution Buffer	2 x 250 ml
	Sample Clean Up Columns	100 unidades
	Componentes disponibles por separado	
2021	Mobile Phase	1000 ml
2022	Mobile Phase	10 x 1000 ml
2023	Calibration Standard	10 ml
2009	Urine Calibration Standard	5 x 5 ml (liof.)
2024	Internal Standard	10 ml
2044/HR	Internal Standard/High Resolution	10 ml
2025	Neutralisation Buffer	2 x 300 ml
2026	Wash Buffer	2 x 250 ml
2027	Elution Buffer	2 x 250 ml
2028	Sample Clean Up Columns	100 unidades
2020/A1	Kit de reactivos para el análisis por HPLC de metanefrinas en orina Aplicación por Gilson® ASPEC™ XL Contenido del kit para 100 análisis:	
	Mobile Phase	1000 ml
	Urine Calibration Standard	2 x 5 ml (liof.)
	Internal Standard	6 ml
	Neutralisation Buffer	350 ml
	Wash Buffer	150 ml
	Elution Buffer	250 ml
	Sample Clean Up Columns con tapón DEC	2 x 50 unidades
2020/A5	Kit de reactivos para el análisis por HPLC de metanefrinas en orina Aplicación por Gilson® ASPEC™ XL Contenido del kit para 500 análisis:	
	Mobile Phase	3 x 1000 ml
	Urine Calibration Standard	5 x 5 ml (liof.)
	Internal Standard	3 x 10 ml
	Neutralisation Buffer	1600 ml
	Wash Buffer	700 ml
	Elution Buffer	5 x 250 ml
	Sample Clean Up Columns con tapón DEC	10 x 50 unidades


 GENARO PASETTI
 Firm. Director Técnico
 MIA. Pasa. 15/10/18

2020/A9	Kit de reactivos para el análisis por HPLC de metanefrinas en orina	
	Aplicación por Gilson® ASPECT™ XL	
	Contenido del kit para 1000 análisis:	
	Mobile Phase	6 x 1000 ml
	Urine Calibration Standard	2 x 5 x 5 ml (liof.)
	Internal Standard	6 x 10 ml
	Neutralisation Buffer	2 x 1600 ml
	Wash Buffer	2 x 700 ml
	Elution Buffer	10 x 250 ml
	Sample Clean Up Columns con tapón DEC	20 x 50 unidades

Componentes disponibles por separado por Gilson® ASPECT™ XL

2021	Mobile Phase	1000 ml
2009/T	Urine Calibration Standard	5 ml (liof.)
2009	Urine Calibration Standard	5 x 5 ml (liof.)
2024/A1	Internal Standard	6 ml
2024	Internal Standard	10 ml
2025/A1	Neutralisation Buffer	350 ml
2025/A5	Neutralisation Buffer	1600 ml
2026/A1	Wash Buffer	150 ml
2026/A5	Wash Buffer	700 ml
2027	Elution Buffer	250 ml
2028/A	Sample Clean Up Columns con tapón DEC	50 unidades

Accesorios

2120	Columna de HPLC, equilibrada y certificada con cromatograma	1 unidad
15009	Prefiltro PEEK, 5 µm	5 unidades
15010	Prefiltro de carcasa PEEK	1 unidad
18001	Soporte para cartuchos de precolumna 4/10	1 unidad
18002	Cartucho de precolumna 4/10	1 unidad
2010	Tubos de plástico para hidrólisis con tapón de rosca	50 unidades
2099	Interference Mix Metanephrene; para la identificación de interferencias ocasionales en el análisis de metanefrinas	10 ml

Controles Chromsystems

0040	Endocrine Urine Control, rango normal	10 x 8 ml (liof.)
0050	Endocrine Urine Control, rango patológico	10 x 8 ml (liof.)



GENARO PASETTI
Farm., Director Técnico
Mód. Dep. ISOP

2 Introducción

Las aminas biógenas normetanefrina, metanefrina y 3-metoxitiramina, metabolitos principales del metabolismo de las catecolaminas (fig. 1), son parámetros importantes para el diagnóstico de los tumores feocromocitoma, neuroblastoma, ganglioneuroma y melanoblastoma. Se deben analizar junto con los parámetros norepinefrina, dopamina, VMA y HVA, para reducir el riesgo de obtener resultados falsos positivos.

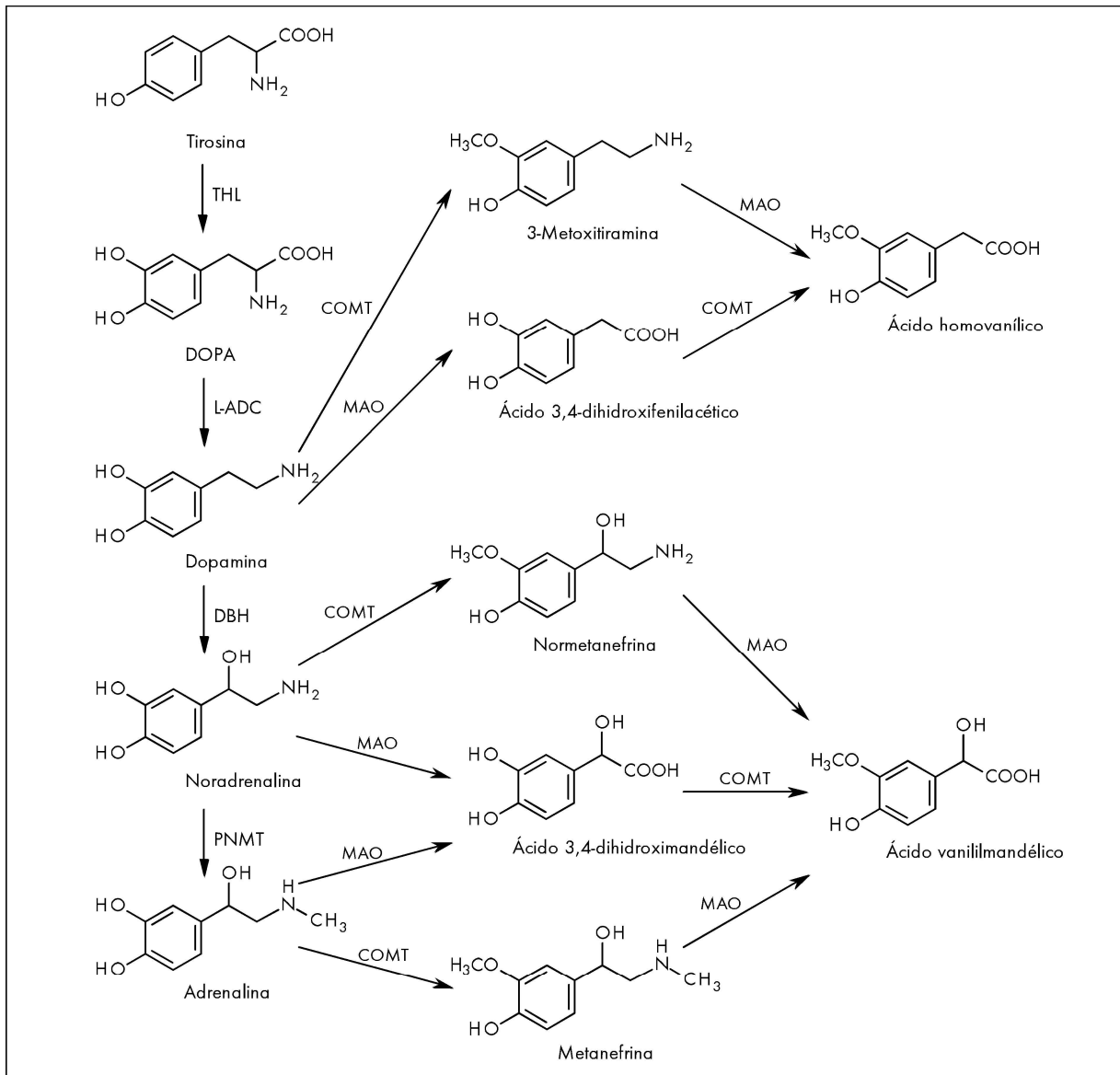


Figura 1 Metabolismo de las catecolaminas y metanefrinas

Uso previsto:

El kit de reactivos de Chromsystems Metanefrinas en orina es un producto de diagnóstico in-vitro para su uso en laboratorios clínicos que sirve para el análisis cuantitativo de la metanefrina, normetanefrina y 3-metoxitiramina en muestras de orina de pacientes mediante HPLC (cromatografía líquida de alta eficacia con detección electroquímica). El kit se emplea para realizar pruebas a pacientes de los que se sospecha que puedan padecer tumores productores de catecolaminas.

Principio del kit de reactivos:

Este kit de reactivos permite el análisis fiable de metanefrina, normetanefrina y 3-metoxitiramina en orina por HPLC. Dado que las metanefrinas están presentes principalmente en forma de conjugados (glucurónidos o sulfatos), se realiza una hidrólisis ácida previa para separarlas. El pH necesario para la extracción en fase sólida siguiente se ajusta automáticamente al añadir el Neutralisation Buffer; si el indicador de pH añadido a la mezcla vira de amarillo a violeta indica que el ajuste de pH es correcto. Para el análisis cromatográfico se precisa un sistema de HPLC isocrático con detector electroquímico. La columna de separación optimizada y la fase móvil garantizan una separación segura de posibles interferencias.



GENARO FASETTI
Fabr. Director Técnico
Aut. Dec. 15190

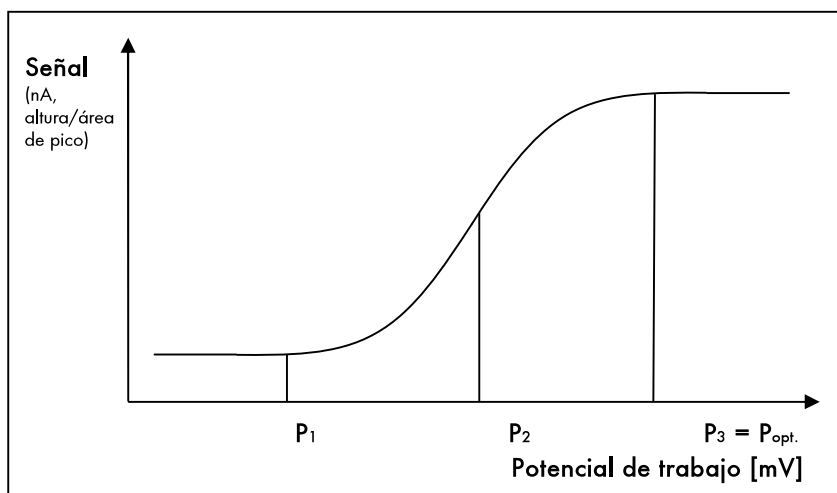
3 Fundamentos de la detección electroquímica

3.1 Principio

El principio de medición electroquímica aplicado con más frecuencia en HPLC es el amperométrico con un potencial de trabajo constante. En los detectores amperométricos convencionales se utiliza una celda de medición de tres electrodos, compuesta por un electrodo de trabajo, un electrodo de referencia y un contraelectrodo. El potencial (tensión de polarización) necesario para la reacción de oxidación y/o de reducción se aplica entre el electrodo de referencia (normalmente Ag/AgCl) y el electrodo de trabajo. El contraelectrodo sirve para mantener el potencial y además evita que se produzca un flujo de corriente hacia el electrodo de referencia. Al pasar una sustancia electroquímicamente activa por la celda de flujo, ésta se oxida y/o se reduce. La conversión oxidativa o reductiva de esta sustancia conduce a la emisión o captación de electrones. La corriente resultante es registrada por un dispositivo de medición, reforzada eléctricamente, y presentada como señal cromatográfica en el cromatograma. Debido a que con un potencial de trabajo determinado sólo un número limitado de grupos funcionales y estructuras químicas son susceptibles a los procesos redox, la detección electroquímica destaca, además de por una alta sensibilidad, por una alta selectividad.

3.2 Influencia del potencial de trabajo en la detección electroquímica

La selección del potencial de trabajo correcto es de gran relevancia para la selectividad de la medición. Lo ideal sería medir con un potencial en el que la señal del detector sea máxima para la sustancia deseada, pero con el que no se detecten las posibles sustancias interferentes (sustancias acompañantes de la matriz de las muestras).



Genaro Piretti
 GENARO PIRETTI
 Firm. - Director Técnico
 Mat. Reg. 15108

Figura 2: Relación entre el potencial de trabajo y la señal del detector

Si el potencial es menor que P₁, no se envía energía suficiente para activar la oxidación de las moléculas que llegan a la superficie del electrodo de trabajo. Si se aumenta el potencial hasta P₂, aumenta también la energía disponible y por tanto se convierten electroquímicamente gran parte de las moléculas que llegan a la superficie del electrodo de trabajo. Si se sigue aumentando el potencial, hasta P₃, la energía disponible es suficiente para convertir todas las moléculas que llegan a la superficie del electrodo de trabajo. Por este motivo no se puede lograr ningún aumento de la señal elevando el potencial de trabajo por encima de P₃. La señal de medición solamente depende de la concentración de la sustancia a medir, es lo que se denomina "rango de meseta controlado por difusión".

Debido a que una vez alcanzado el rango de meseta la sensibilidad de medición no aumenta, no tiene sentido medir con valores de potencial mayores a P₃. Además, el aumento del potencial conduce a una disminución de la selectividad, lo que significa un incremento de la transformación electroquímica de sustancias que interfieren en la cromatografía.

3.3 Optimización del potencial de trabajo

Para la selectividad del análisis, la dimensión del potencial de trabajo tiene una relevancia decisiva, por lo cual debe ser optimizado de vez en cuando. Un potencial de trabajo optimizado garantiza la más alta sensibilidad para el analito deseado y la mínima interferencia de otras sustancias de la muestra.

La experiencia muestra que el potencial de trabajo óptimo varía de celda medidora a celda medidora. Esto se debe a que la resistencia entre el electrodo de referencia y el electrodo auxiliar no es homogénea. Por ello, el potencial de trabajo óptimo debe ser establecido empíricamente, p.ej. inyectando y analizando un estándar de calibración utilizando diferentes potenciales de trabajo. Para optimizar el potencial para el análisis de las metanefrinas en orina, se debe utilizar el calibrador acuoso (n° art. 2023).

Proceder de la siguiente manera para la optimización:

1. Ajustar el potencial de trabajo a +740 mV.
Inyectar el Calibration Standard (n° de pedido 2023).
Determinar la altura o el área del pico del estándar interno.
2. Aumentar el potencial de trabajo en 40 mV.
Inyectar el Calibration Standard (n° de pedido 2023).
Determinar la altura o el área del pico del estándar interno.
3. Si la altura de pico aumenta más del 15%:
Repetir el segundo paso.
Si la altura de pico varía mínimamente:
Reducir el potencial de trabajo al valor anterior (-40 mV).

Conservar el cromatograma correspondiente a modo de referencia.

El potencial de trabajo óptimo se suele encontrar entre +780 mV y +840 mV y no se ve influenciado por los trabajos de mantenimiento rutinarios en la medidora (p.ej. renovación de la solución KCl, activación del electrodo de trabajo). Después de mayores intervenciones en la celda de medición (p.ej. cambio del electrodo de referencia) se debe volver a optimizar el potencial de trabajo.

Antes de cada serie de análisis se debería inyectar un estándar de calibración y comparar el cromatograma obtenido con el cromatograma de referencia, recomendándose optimizar nuevamente el potencial de trabajo en caso de discrepancias significativas.

Se puede tomar la relación entre la altura de los picos en el estándar de calibración acuoso (n° de pedido 2023) como **norma empírica para la optimización del potencial**: Si el potencial está ajustado correctamente, el pico del estándar interno es el doble de alto que el pico de la normetanefrina (en el cromatograma, es el primer pico tras el frente de inyección). En cualquier caso, esta norma empírica sólo puede mostrar que el potencial de trabajo no es demasiado bajo. ¡No probará un potencial demasiado alto, que podría causar picos de interferencia adicionales en el cromatograma!

En la figura 3 (página siguiente) se muestra gráficamente la optimización del potencial.

GENARO PASETTI
Falm. Director Técnico
BIO. N° 15128

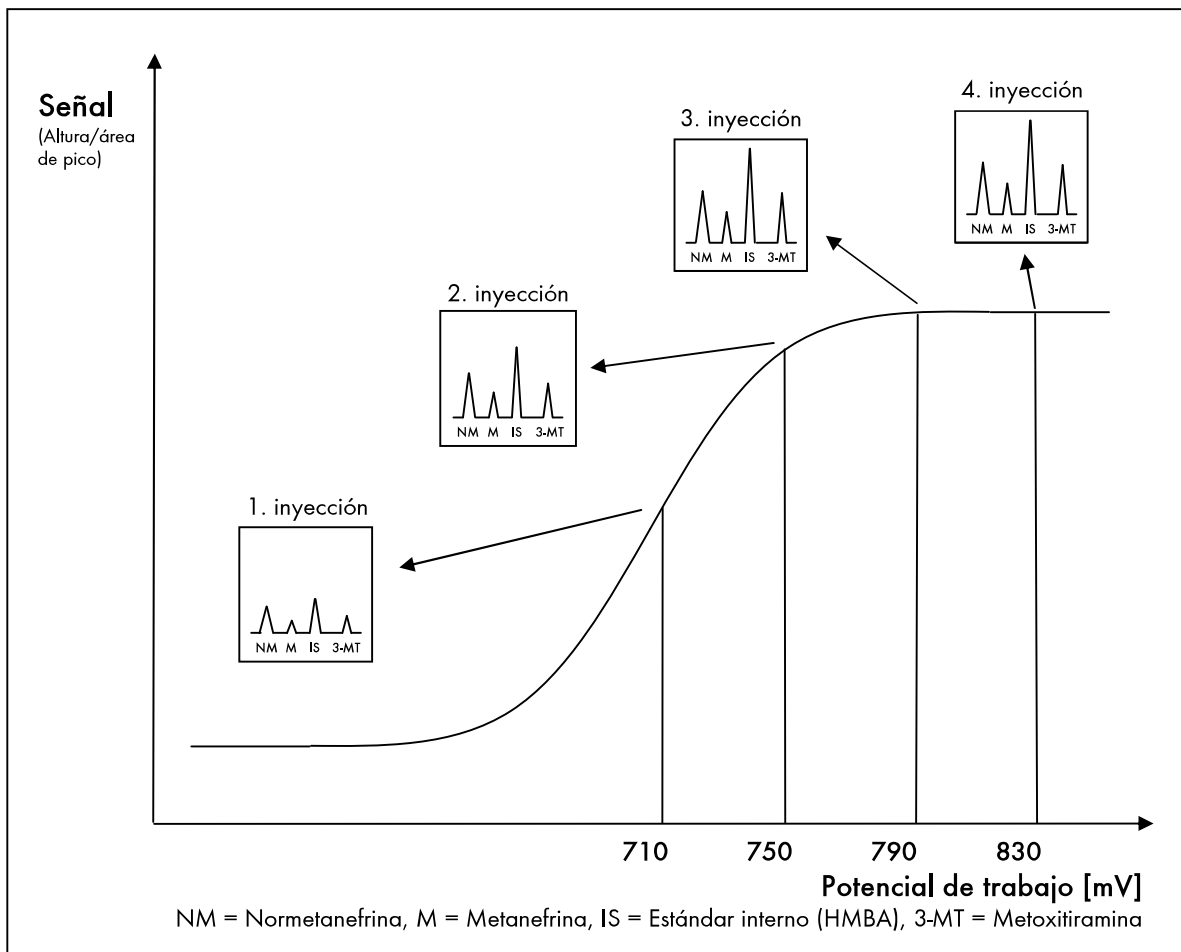


Figura 3 Optimización del potencial de trabajo

4 Sistema HPLC

Nota: En el manejo de los reactivos, prestar atención a las observaciones acerca de las sustancias peligrosas mencionadas en el apéndice II.

4.1 Puesta en funcionamiento

Conectar la columna analítica a la bomba HPLC en la dirección correcta del flujo y dejar fluir aprox. 20 ml de fase móvil por la columna a una velocidad de 1 ml/min. Posteriormente, unir el capilar de salida de la columna con la entrada a la celda detectora. No desgasificar la fase móvil antes de usarla. En cuanto el sistema esté equilibrado y la corriente basal sea < 5 nA, se puede recircular la fase móvil (la salida de la celda detectora se conecta con un capilar de vuelta a la botella de fase móvil). Leer los datos detallados en el manual correspondiente para la instalación y puesta en funcionamiento de cada uno de los componentes del aparato HPLC.

Líquido de limpieza para la aguja del inyector: agua ultrapura (calidad HPLC) con metanol al 5-10 %

4.2 Ajustes del aparato

Detector:

Seleccionar el potencial de trabajo (ver apartado 3.3) para la detección electroquímica de las metanefrinas correspondientes al valor de meseta determinado (normalmente entre +780 y +840 mV contra un electrodo de referencia Ag/AgCl). La corriente basal del sistema de detección no debería sobrepasar los 5 nA después del equilibrado.

Separación cromatográfica:

Velocidad de flujo: 1,0-1,2 ml/min
 Temperatura de la columna: temperatura ambiente (25 °C aprox.)

La temperatura ambiente debe mantenerse constante, para evitar fluctuaciones en los tiempos de retención. Es posible compensar pequeñas fluctuaciones en los tiempos de retención adaptando apropiadamente la velocidad de flujo o utilizando un horno de columnas.

Analito	Tiempos de retención [min aprox.] (con un flujo de 1,0 ml/min.)
Normetanefrina	5,5
Metanefrina	7,0
Estándar interno (HMBA)	8,4
3-Metoxitiramina	12,5

La duración de la separación cromatográfica es de unos 14 min (comparar cromatograma en el capítulo 12). Al utilizar un nuevo lote de fase móvil o una nueva columna de HPLC, se pueden desplazar mínimamente los tiempos de retención. Por ello, se deberían fijar los tiempos de retención efectivos en base a un cromatograma de calibración.

Control de la capacidad de separación:

Para comprobar la capacidad de separación del sistema, antes del análisis de las muestras de orina se debe realizar un ciclo de prueba. Con este propósito se inyectará de nuevo el estándar de calibración. Los cromatogramas resultantes permiten el correcto ajuste de los parámetros de integración. La última inyección de prueba puede emplearse para la calibración.

4.3 Columna de HPLC

La columna de HPLC para el análisis de las metanefrinas se envía equilibrada y probada, lista para su uso. **No debe lavarse con otras soluciones.** Con una velocidad de flujo de 1,0 ml/min, la contrapresión de una columna nueva es de 100 bar aprox., y puede aumentar con el tiempo. Mientras las separaciones sean satisfactorias, un aumento de la presión no es relevante, no obstante, no debería sobrepasar los 200 bar. Para aumentar la durabilidad de la columna se recomienda utilizar un prefiltro PEEK (n° de pedido 15009 y n° 15010) o una precolumna (n° de pedido 18002 y 18001).



GENARO RASSETTI
 Farm. - Director Tecnico
 Mod. Pag. 15/08

4.4 Mantenimiento y cuidados del sistema HPLC

4.4.1 Pasivar la bomba y los capilares

El trabajo analítico dentro del rango de sensibilidad necesario para estos análisis exige un nivel de **limpieza máximo** de todos los componentes. Por ello, se deben utilizar sólo reactivos y disolventes que tengan el grado de pureza apropiado. Especialmente en la detección electroquímica, donde incluso trazas de sustancias electroquímicamente activas pueden ser oxidadas y/o reducidas y podrían provocar un ruido de fondo demasiado alto y/o picos adicionales. **La mayoría de los problemas en la detección electroquímica son atribuibles a la contaminación del circuito HPLC.** Por este motivo, se recomienda una "preoxidación" (pasivación) del sistema HPLC con ácido nítrico cada 3-4 meses (dependiendo del número de muestras que se procesen).

Procedimiento de pasivación:

¡Antes de la pasivación se deben desconectar la columna de HPLC y el detector electroquímico! En cualquier caso, el capilar que va de la columna analítica a la celda detectora también se debe pasivar, para ello, simplemente hay que montar una pieza de unión en lugar de la columna de HPLC.

Se retira la fase móvil y se lava el sistema con unos 20 ml de agua ultrapura (calidad HPLC) a una velocidad de flujo de 1,5 ml/min. A continuación, manteniendo la velocidad de flujo y durante unos 20 min, se bombea ácido nítrico al 15-20 % a través de todo el sistema de conducciones capilares y de inyección. En la unidad de inyección se debe realizar varias veces el procedimiento de inyección (es decir, si se utiliza un auto inyector, se colocará ácido nítrico al 15-20 % en un vial y se inyectará **varias veces** el volumen máximo posible, y, si el sistema de inyección es manual, se conmutará **varias veces** de LOAD a INJECT).

Después de la pasivación el ácido nítrico se debe eliminar completamente del sistema lavando con agua ultrapura (calidad HPLC); incluyendo, aquí también, varias simulaciones del procedimiento de inyección. Cuando el valor del pH del agua de lavado sea neutro (pH 6-7), el sistema puede equilibrarse nuevamente con fase móvil.

4.4.2 Limpieza del electrodo de trabajo ("activación")

La superficie del electrodo de trabajo se puede contaminar con el uso, provocando así una pérdida de sensibilidad. Para el restablecimiento de la sensibilidad, el electrodo de trabajo se trata con ácido cromosulfúrico (activación).

¡Atención!

Utilizar guantes y gafas de protección y tener sumo cuidado al utilizar ácido cromosulfúrico. Los electrodos deben estar completamente secos antes de comenzar con la activación.

Procedimiento:

(Solamente para detectores electroquímicos de Chromsystems)

1. Desmontar el electrodo de trabajo de la celda. Durante el proceso, tocar el electrodo solamente por sus bordes.
2. Colocar el electrodo sobre una base plana.
3. Verter una gota de ácido cromosulfúrico sobre la superficie negra en el centro de la placa del electrodo.
4. Esperar de 2 a 5 min.
5. Enjuagar bien el electrodo con agua ultrapura (calidad HPLC).
6. Volver a montar el electrodo. El lado activado debe mirar hacia el área interior de la celda.
7. Volver a equilibrar el sistema.



GERARDO PASETTI
Firma: Gerardo Pasetti
Mol, Dec. 19156

4.4.3 Mantenimiento del electrodo de referencia

(Solamente para detectores electroquímicos de Chromsystems)

Con el tiempo, los iones de la solución de electrolitos (3 M KCl) difunden hacia la fase móvil a través del diafragma, provocando que el potencial del electrodo de referencia se desplace hacia valores mayores. Para mantener un potencial del sistema de referencia definido, es necesario recargar el electrodo de referencia por lo menos una vez a la semana con una solución de cloruro de potasio 3 M. Utilizar una pipeta o similar para llenar el electrodo de referencia con KCl 3 M prestando especial atención a que no se produzca ninguna burbuja de aire en el electrodo de referencia.

La pieza de teflón blanca fija el electrodo de referencia a la celda medidora. En la parte inferior de la pieza, un diafragma de vidrio poroso controla la difusión de los iones entre el eluyente y el electrodo de referencia. Si las soluciones salinas cristalizan dentro de la celda, pueden provocar grietas en el diafragma creando una fuga entre la corriente de eluentes y el interior del electrodo de referencia. Si el electrodo de referencia Ag/AgCl lleva bastante tiempo en funcionamiento, pueden formarse cristales de cloruro de plata sobre el diafragma observándose una capa oscura sobre el mismo. El equilibrio del sistema de referencia se altera debido a este sedimento de AgCl en el diafragma, con lo que el potencial de trabajo ajustado ya no se mantendrá constante. Para remediarlo, se puede cambiar el inserto de teflón, o tratar de limpiar el diafragma con amoníaco al 25% (colocar la pieza de teflón en amoníaco al 25% durante toda la noche; luego lavarlo bien con agua).

4.4.4 Evitar pulsaciones de la bomba

La detección electroquímica se basa en una conversión electroquímica de los analitos en la superficie del electrodo de trabajo. La tasa de conversión (= señal de medición) depende de la velocidad con la que los analitos son conducidos al electrodo de trabajo. Debido a la pulsación de la bomba puede producirse un flujo irregular en la celda dando lugar a una tasa de conversión irregular de las sustancias de la muestra en la superficie del electrodo. Esto provoca que la línea basal sea muy inestable. En las mediciones que requieren de una alta sensibilidad se recomienda equipar la bomba de HPLC con amortiguadores de pulso adicionales.

4.4.5 Pausas en el funcionamiento

Si no se va a utilizar el aparato en un plazo de hasta 1 semana, se recomienda mantener la fase móvil en circulación con una velocidad de flujo reducida (0,2 ml/min. aprox.).

Para pausas en el funcionamiento más prolongadas, proceder de la siguiente manera:

- Desmontar la columna de HPLC y cerrarla bien. **No es necesario realizar un procedimiento de conservación o de lavado de la columna. Conserve la columna en la fase móvil.**
- Conmutar el detector electroquímico en "stand-by".
- Lavar el sistema HPLC con aprox. 50 ml de agua:metanol (50 : 50).
- Desmontar el electrodo de referencia y el electrodo de trabajo del detector, lavar con agua y, una vez secos, guardar hasta su siguiente uso.
- ¡Marcar el lado activado del electrodo de trabajo!



GENARO PASETTI
Firma: Director Técnico
Mód. Sae-15389

5 Preparación de la muestra

Nota: En el manejo de los reactivos, prestar atención a las observaciones acerca de las sustancias peligrosas mencionadas en el apéndice II.

5.1 Colección y conservación de las muestras de orina

El objeto a analizar es la orina recogida durante un periodo de 24 horas. Si ello no fuera posible, también se puede analizar orina espontánea. En este caso se analizará la cantidad de creatinina. La orina de 24 horas se almacenará en un recipiente adecuado en 10 ml de HCl al 25%. La estabilidad, si se conserva entre +2 y +8 °C, es de 5 días. En caso de almacenamiento más prolongado, deben congelarse alícuotas a temperaturas de menos de -18 °C.

5.2 Reconstitución de los estándares de calibración de orina

El estándar de calibración (n° de pedido 2009) es trazable a patrones de sustancias puras. Después de la reconstitución, se procesará igual que las muestras de los pacientes siguiendo todo el protocolo de preparación de muestras. El estándar procesado se utiliza para la calibración del sistema HPLC. **Para reconstituir el estándar de calibración liofilizado, pipetear exactamente 5,0 ml de agua destilada en el recipiente.** Dejar reposar de 10 a 15 min. a temperatura ambiente, agitando varias veces el recipiente hasta que se haya disuelto completamente el contenido del mismo. ¡Evitar la luz del sol directa! Las concentraciones dependen del lote de fabricación y se deben consultar en la hoja de información del estándar de calibración correspondiente.

¡Atención!:

Este producto ha sido producido a partir de un pool de orina humana, cuyos donantes han sido sometidos a controles médicos constantes, habiendo sido diagnosticados como libres de enfermedades infecciosas. Sin embargo, no es posible descartar totalmente un riesgo de infección al usar este producto, ya que no hay ningún método de análisis absolutamente seguro, ni métodos de análisis para todas las enfermedades, además de poder contener agentes patógenos actualmente desconocidos. Por estos motivos recomendamos que todos los productos que contengan materiales humanos sean considerados como potencialmente infecciosos. Al usar estos productos se tienen que cumplir las mismas medidas de precaución que en el manejo de muestras de pacientes potencialmente infecciosas.

Estabilidad del estándar de calibración reconstituido:

El estándar reconstituido es estable hasta 5 días, si se protege de la luz, se cierra herméticamente y se almacena en frío (+2 hasta +8 °C). En caso de almacenamiento más prolongado (máx. 3 meses), el estándar se debe almacenar en alícuotas congeladas a temperaturas de menos de -18 °C.



GENARO PASETTI
Farm. - Director Técnico
Aut. N.º 15198

5.3 Reconstitución de los controles de orina

Los controles de orina para el rango normal (n° de pedido 0040) y para el rango patológico (n° de pedido 0050) son sometidos a los mismos procesos de preparación de muestra que la orina de los pacientes. Los controles procesados se incluyen en cada serie de análisis para controlar la exactitud y la precisión del sistema. Para reconstituir los controles liofilizados, pipetear exactamente 8,0 ml de agua destilada en el recipiente correspondiente. Dejar reposar de 10 a 15 min. a temperatura ambiente, agitando varias veces el recipiente hasta que se haya disuelto completamente el contenido del mismo. ¡Evitar la luz del sol directa! Las concentraciones dependen del lote de fabricación y se deben consultar en la hoja de información del control correspondiente.

¡Atención!

Este producto ha sido producido a partir de un pool de orina humana, cuyos donantes han sido sometidos a controles médicos constantes, habiendo sido diagnosticados como libres de enfermedades infecciosas. Sin embargo, no es posible descartar totalmente un riesgo de infección al usar este producto, ya que no hay ningún método de análisis absolutamente seguro, ni métodos de análisis para todas las enfermedades, además de poder contener agentes patógenos actualmente desconocidos. Por estos motivos recomendamos que todos los productos que contengan materiales humanos sean considerados como potencialmente infecciosos. Al usar estos productos se tienen que cumplir las mismas medidas de precaución que en el manejo de muestras de pacientes potencialmente infecciosas.

Estabilidad de los controles de orina reconstituidos:

Los controles reconstituidos protegidos de la luz, cerrados herméticamente y almacenados en frío (+2 hasta +8 °C), son estables hasta 5 días. En caso de almacenamiento más prolongado (máx. 3 meses), los controles se deberán almacenar en alícuotas congeladas a temperaturas de menos de -18 °C.

5.4 Hidrólisis ácida de las muestras de orina

Depositar 100 µl de estándar interno en un tubo para hidrólisis con cierre. Añadir 1 ml de orina y ajustar el pH de la muestra a 0,8-1,0 con HCl 2 N. Cerrar el tubo e incubar la muestra al baño maría (90-100 °C) durante 30 minutos. A continuación enfriar inmediatamente hasta alcanzar la temperatura ambiente.



GENARO PASETTI
Farm. Director Técnico
Mat. 00001508

5.5 Extracción de la muestra

Neutralización:

Mezclar la muestra de orina hidrolizada con 6 ml de Neutralisation Buffer; el color de la muestra debería virar de amarillo-marrón a violeta (este cambio de color indica que la muestra ha alcanzado el pH necesario para la extracción subsiguiente).

Si no se produce el viraje de color, significa que la muestra se acidificó en exceso en la hidrólisis ácida; en ese caso, añadir con cuentagotas NaOH 2 N hasta que el color vire al violeta.

Extracción:

Agitar brevemente (resuspender) y rotular cada columna de preparación de muestras, para cada muestra. Retirar la tapa de la columna y romper la punta del precinto. **Eliminar completamente el tampón de equilibrado de todas las columnas de preparación de muestras.**

Verter el volumen total de orina diluida en las columnas de intercambio. Desechar los eluatos.

Después de aplicar la muestra, y procurando agitar lo menos posible el lecho de intercambio iónico, lavar la columna como sigue:

1. 10 ml de agua ultrapura (calidad HPLC)
2. 5 ml de Wash Buffer

Desechar los eluatos.

Elución:

Colocar las columnas de preparación de muestras en tubos desechables convenientemente rotulados. A continuación, añadir 5 ml de tampón de elución y recoger el eluato. ¡Mezclar bien cada eluato!

Añadir 30 μ l de ácido acético glacial por ml de eluato (150 μ l de ácido acético glacial en el eluato completo) e inyectar 20 μ l del eluato acidificado en el sistema de HPLC.



GENARO PASETTI
Farm. Director Técnico
Mat. Reg. 15198

5.6 Esquema de preparación de las muestras

Hidrólisis ácida

- Colocar 100 µl de estándar interno (en el correspondiente tubo para hidrólisis)
- Añadir 1 ml de orina y ajustar el pH a 0,8-1,0 con HCl 2 N
- Incubar 30 minutos a 90-100 °C en un tubo de hidrólisis cerrado
- A continuación enfriar inmediatamente

Neutralización

- Orina hidrolizada + 6 ml de Neutralisation Buffer

¡ Debe producirse un viraje de amarillo-marrón a violeta!

Sólo en caso de que no se produzca el viraje: Añadir con cuentagotas NaOH 2 N hasta que se produzca dicho cambio de color.

Extracción

- Verter el volumen total de orina neutralizada en la columna de preparación de muestras
- Desechar los eluatos
- Lavar primero con 10 ml de agua ultrapura (calidad HPLC), después con 5 ml de Wash Buffer
- Desechar los eluatos

Elución

- Añadir 5 ml de Elution Buffer en la columna de preparación de muestras, y recoger el eluato
- ¡Mezclar bien cada eluato!

Análisis HPLC

- Acidificar el eluato con 150 µl de ácido acético glacial (30 µl por ml de eluato)
- Inyectar 20 µl del eluato acidificado en el sistema de HPLC

5.7 Estabilidad de las muestras preparadas

Las muestras procesadas, antes de ser acidificadas con ácido acético glacial ($\text{pH} > 7$), permanecen estables hasta tres días a temperatura ambiente y una semana entre +2 y +8 °C. Tras la acidificación, son estables un día a temperatura ambiente y un máximo de siete días entre +2 y +8 °C. Conservadas a temperaturas inferiores a -18 °C, las muestras se mantienen estables un mínimo de cuatro semanas antes y tras la acidificación.



GENARO BASSETTI
Farm. - Director Técnico
Mil. Dep. 15/100

6 Adquisición y evaluación de datos

6.1 Calibración del sistema de cálculo

Antes del análisis cuantitativo de las muestras procesadas se recomienda elaborar un cromatograma de calibración que contenga todos los componentes de la mezcla de la muestra a analizar. Con este propósito, y después de que se haya estabilizado la línea basal, se inyectará una alícuota (20 µl) del estándar de calibración acuoso. Para asegurar la estabilidad del sistema cromatográfico, se inyectará repetidamente el estándar de calibración hasta obtener valores idénticos en dos cromatogramas consecutivos en lo que respecta a los tiempos de retención, a la resolución y al área de los picos. Según los datos del último proceso de calibración, se calibra el sistema de cálculo (PC, integrador, etc.). En el cuadro de cálculo, introducir las concentraciones de la solución de calibración y los tiempos de retención obtenidos de esta manera.

La cuantificación exacta de la 3-MT, necesaria, por ejemplo, para el diagnóstico del paraganglioma [7], debe realizarse **obligatoriamente** con el Urine Calibration Standard, n° de artículo 2009 (calibrador de matriz). El calibrador acuoso (n° art. 2023) permite analizar la 3-MT solo de forma semicuantitativa.

a) Usando el estándar de calibración acuoso (n° de pedido 2023)

Analito	Tiempo de retención (min. aprox.)	Concentración (µg/l)
Normetanefrina	5,5	250
Metanefrina	7,0	250
Estándar interno (HMBA)	8,4	1
3-Metoxitiramina	12,5	250-350

Esta solución de calibración se inyecta directamente (sin preparación de la muestra) en el sistema de HPLC.

b) Usando el estándar de calibración de orina (n° de pedido 2009)

Analito	Tiempo de retención (min. aprox.)	Concentración (µg/l)
Normetanefrina	5,5	ver hoja de información
Metanefrina	7,0	ver hoja de información
Estándar interno (HMBA)	8,4	1
3-Metoxitiramina	12,5	ver hoja de información

El estándar de calibración de orina es sometido al proceso de preparación de muestras de forma análoga a las muestras de los pacientes. Las concentraciones de cada uno de los analitos dependen del lote de fabricación y se deben consultar en la hoja de información correspondiente. Para asegurar que no se hayan modificado ni la calibración ni las condiciones del HPLC (tiempos de retención, etc.), se debería inyectar nuevamente el estándar de calibración durante la serie de muestras, o, por lo menos, al final de la secuencia de inyección.



GENARO PASETTI
Firma: Director Técnico
Módulo: 15189

6.2 Análisis cuantitativo con estándar interno

El uso de un estándar interno permite compensar las posibles pérdidas que puedan presentarse durante la preparación de las muestras. Para ello se añadirá a la muestra de orina (calibrador de orina, controles, muestras de los pacientes) una cantidad definida del estándar interno. En el software de evaluación se le asignará el pico correspondiente del proceso de calibración, definido como estándar interno en el cuadro de componentes (en este caso, pico n° 3). Además se introducirán las concentraciones de cada uno de los analitos en el estándar de calibración.

Composición del estándar de calibración acuoso (n° de pedido 2023):

Normetanefrina:	50 µg/l	(273 nmol/l)
Metanefrina:	50 µg/l	(254 nmol/l)
3-Metoxitiramina:	50-70 µg/l	(299-419 nmol/l)
Estándar interno (HMBA):	100 µg/l	

Dado que en la preparación de la muestra se produce una dilución de 1:5 (1 ml de orina → 5 ml eluato), las concentraciones en el estándar de calibración son el quintuple con respecto a las de la muestra original:

Normetanefrina:	250 µg/l	(1365 nmol/l)
Metanefrina:	250 µg/l	(1268 nmol/l)
3-Metoxitiramina:	250-350 µg/l	(1495-2093 nmol/l)
Estándar interno (HMBA):	500 µg/l	

Concentración del estándar interno:

4-hidroxi-3-metoxi-bencilamina (HMBA) 5,0 ng/µl

Al mezclar 1 ml de orina con 100 µl de estándar interno (5,0 ng/µl), la concentración del estándar interno en la muestra será de 500 ng/ml (500 µg/l). Al ser idéntica a la del estándar de calibración, se puede introducir el valor "1" como concentración del estándar interno. **Al usar el estándar de calibración de orina (n° de pedido 2009)** se añaden, tanto al estándar de calibración como a las muestras de los pacientes, volúmenes idénticos de estándar interno, de forma que igualmente se pueda introducir en todas las muestras el valor "1" como concentración del estándar interno. **El calibrador y el estándar interno son trazables a patrones de sustancias puras.**

Cálculo de los valores referidos a la creatinina. (en µg/g creatinina):

Dividir el valor medido de la concentración (en µg/l) entre la concentración de creatinina en orina (en g/l).

Calculo de la eliminación en 24 horas (en µg):

Multiplicar el valor medido de la concentración (en µg/l) por el volumen de orina (en litros).

7 Control de calidad

Para controlar la precisión y la exactitud de los análisis, incluir controles adicionales paralelos en cada serie de muestras (controles de orina de Chromsystems, n° de pedido 0040, 0050). Si los valores se encuentran fuera de los rangos indicados en la hoja de información de los controles, se debe revisar el sistema y calibrar de nuevo si fuera necesario.



GENARO PASETTI
SARL - Director Técnico
Mód. Tec. 15159

8 Rangos de referencia

Los rangos de referencia dependen del método de análisis y del colectivo de pacientes investigado. Por ejemplo, en pacientes hipertensos se observa generalmente una mayor eliminación de metanefrinas que en individuos sanos. En el Instituto de Química Clínica del hospital universitario de Großhadern (Universidad de Múnich) el Prof. Jacob analizó por HPLC durante varios años muestras de pacientes (orina de 24 horas), extrayendo de ello los siguientes rangos de referencia:

Normetanefrina hasta 800 µg/24 h (hasta 4,4 µmol/24 h)
Metanefrina hasta 400 µg/24 h (hasta 2,0 µmol/24 h)

Dentro del marco de estos estudios se identificaron 100 pacientes con feocromocitoma, con un inequívoco diagnóstico histológico posterior.

Si se estudian individuos sanos para extraer los valores indicativos, el resultado son rangos de referencia más bajos, p.ej. en L. Thomas, Labor und Diagnose, 6. Aufl., TH-Books Verlagsgesellschaft, Frankfurt/Main (2005):

Normetanefrina hasta 390 µg/24 h (hasta 1,95 µmol/24 h)*
Metanefrina hasta 320 µg/24 h (hasta 1,52 µmol/24 h)*

Estos valores fueron determinados mediante métodos de análisis diferentes (HPLC, RIA, DC).

9 Factores de conversión

La siguiente tabla contiene los factores de conversión entre concentraciones en masa y concentraciones molares, y a la inversa.

Componente	µg/l en nmol/l	nmol/l en µg/l
Normetanefrina	x 5,4585	x 0,1832
Metanefrina	x 5,0710	x 0,1972
3-Metoxitiramina	x 5,9809	x 0,1672



GENARO PASETTI
Farm. - Biologo Tecnico
Mat. No. 15196

*en "Thomas" hay un error de cálculo; lo correcto sería:

Normetanefrina hasta 2,13 µmol/24 h
Metanefrina hasta 1,62 µmol/24 h

10 Almacenamiento y caducidad de los reactivos

Los reactivos no abiertos son estables hasta la fecha indicada en la etiqueta mientras se cumplan las condiciones de almacenamiento indicadas en la misma.

Condiciones de almacenamiento:

Producto	Almacenamiento
Mobile Phase	Temperatura ambiente
Estándar de calibración	+2 hasta +8 °C
Estándar de calibración de orina	<-18 °C
Internal Standard	+2 hasta +8 °C
Neutralisation Buffer	Temperatura ambiente
Wash Buffer	Temperatura ambiente
Elution Buffer	Temperatura ambiente
Sample Clean Up Columns	Temperatura ambiente
Controles de orina, Level I y II	+2 hasta +8 °C

Los reactivos se deben cerrar y almacenar correctamente, inmediatamente después de su uso. Si no se indica lo contrario, la estabilidad es de un año después de la fecha de apertura, no obstante, nunca más allá de la fecha de caducidad indicada. Para el estándar de calibración y los controles, ver los capítulos 5.2 y 5.3.

11 Tratamiento de los residuos

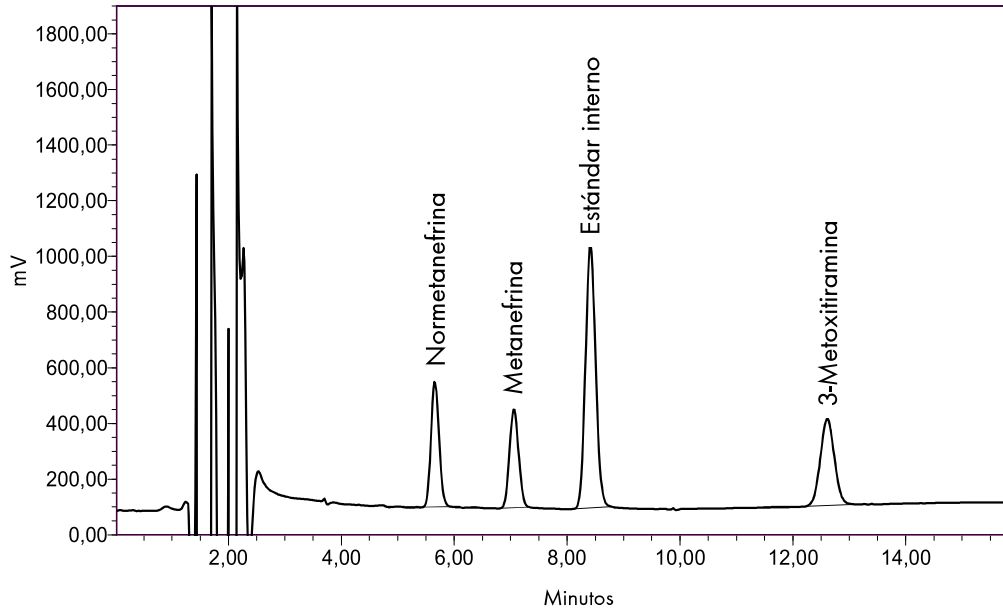
La Mobile Phase contiene **solventes orgánicos** y debe ser eliminada correctamente como desecho sin **halógenos** según establezcan las normas locales.



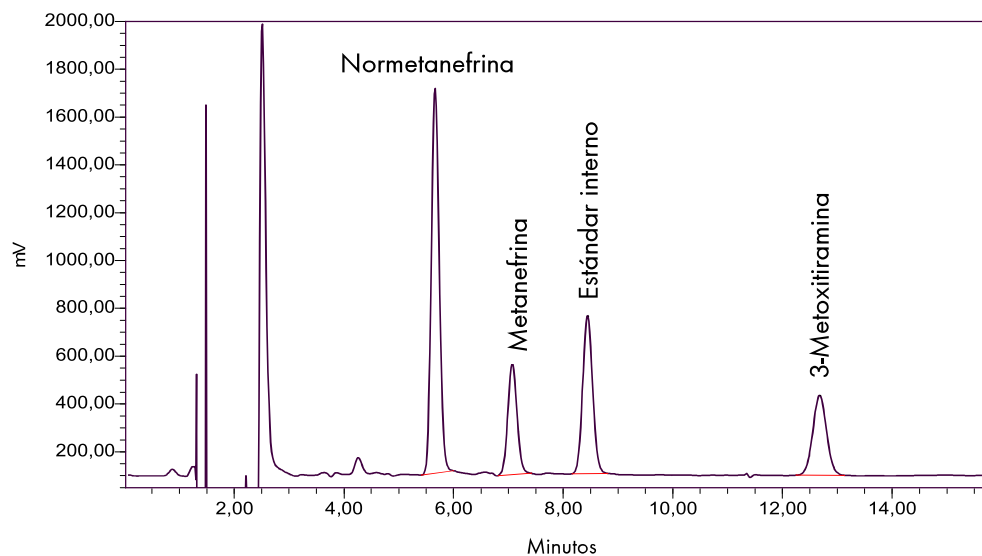
GENARO PASETTI
Firm. Director Técnico
ANL 15/10

12 Ejemplos de cromatogramas

12.1 Cromatograma de un estándar de calibración acuoso

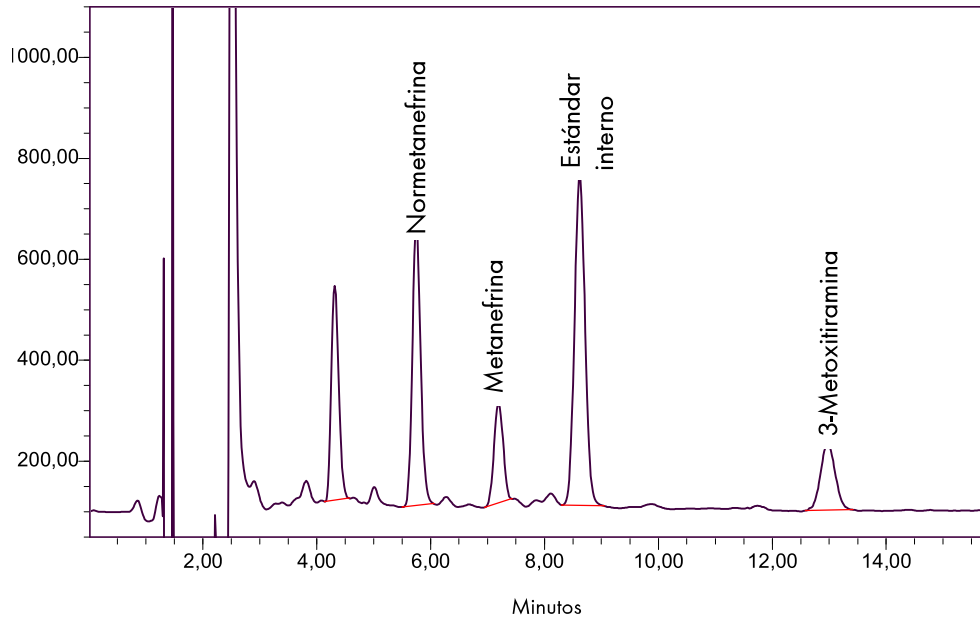


12.2 Cromatograma de un control de orina (rango patológico)




GENARO PASETTI
Farm. Director Técnico
Méd. Apr. 1988

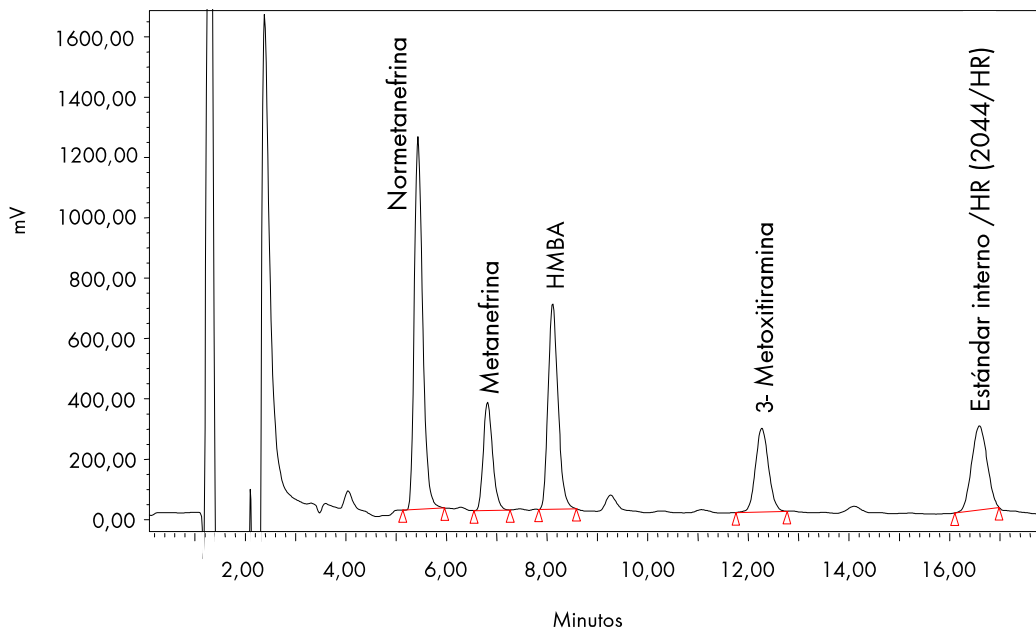
12.3 Cromatograma de la muestra de un paciente



Normetanefrina: 370 µg/l
 Metanefrina: 160 µg/l
 3-Metoxitiramina: 180 µg/l

12.4 Cromatograma de una muestra de paciente con el estándar interno alternativo (n° art. 2044/HR)

Análisis con el estándar interno alternativo (Internal Standard/HR) en presencia de interferencias causadas por alimentos que contienen capsaicina (ver cap. 13).



[Handwritten signature]
 GENARO PASETTI
 Farm. Director Técnico
 Mat. Reg. 12108

13 Interferencias conocidas

La sustancia usada como estándar interno, 4-hidroxi-3-metoxi-bencilamina (HMBA) es una sustancia que se produce de forma natural. Normalmente, su concentración en orina está por debajo de los límites detectables y no influye por tanto en el análisis.

La capsaicina, una amida de ácido graso de la HMBA, es el componente que da la pungencia a los pimientos picantes. Es, por ejemplo, uno de los ingredientes del curry en polvo. Por lo tanto, dependiendo del tipo de alimentación, la concentración de HMBA puede llegar a ser tan grande que dé lugar a resultados falsos (demasiado bajos) para la metanefrina, normetanefrina y 3-metoxitiramina.

En ese caso, se debe usar el estándar interno alternativo (Internal Standard/High Resolution, n° art. 2044/HR, ver cromatograma en cap. 12.4). La preparación de muestras y el análisis mediante HPLC permanecen igual, la duración del análisis aumenta levemente, hasta unos 18 minutos.

14 Localización y resolución de problemas

Problema	Causa posible	Solución
Línea basal irregular	Contaminación del sistema HPLC con impurezas electroquímicamente activas	Pasivar la bomba, los capilares y el sistema de inyección con ácido nítrico
	Formación de grietas en el diafragma	Cambiar la pieza de teflón
	Sedimentos en el diafragma del sistema de referencia	Limpiar el diafragma con amoníaco al 25% o cambiarlo
La línea basal muestra oscilaciones rítmicas	Juntas de las cabezas de la bomba HPLC dañadas	Comprobar la bomba HPLC para descartar fugas. Comuníquese con el servicio de asistencia si fuera necesario
	Suciedad o productos de reacción sobre la superficie del electrodo de trabajo	Limpiar/ activar el electrodo de trabajo
	Pared interior de la celda medidora dañada (arañazos)	Cambiar o hacer reparar la celda
	La celda medidora de su detector electroquímico no es hermética	Comprobar la celda medidora para descartar fugas. Con cuidado, ajustar un poco más el tornillo de presión. Si fuera necesario, cambiar la junta de la celda
	Burbujas de aire en el sistema de la bomba; pulsación de la bomba	Purgar la bomba



GIANRO PASETTI
FARM. - Direttore Tecnico
Mil, 04/15/2015

Problema	Causa posible	Solución
Línea basal inestable	El sistema aún no está equilibrado	Bombear la fase móvil en el circuito durante largo rato
	Variaciones en la temperatura ambiente	Garantizar una temperatura ambiente constante. Si se presentaran regularmente grandes oscilaciones de temperatura, termostatar la columna de HPLC
	Fugas en los extremos de los capilares	Localizar las fugas, volver a ajustar las conexiones, cambiarlas si fuera necesario
Alta corriente de fondo	Contaminación del sistema de HPLC con impurezas electroquímicamente activas	Pasivar la bomba, los capilares y el sistema de inyección con ácido nítrico
	Fase móvil contaminada	Cambiar la fase móvil
	Columna de HPLC contaminada	Cambiar la columna de HPLC
	Suciedad o productos de reacción sobre la superficie del electrodo de trabajo	Limpiar/ activar el electrodo de trabajo
Disminución de la sensibilidad del detector; pérdida de la señal	Suciedad o productos de reacción sobre la superficie del electrodo de trabajo	Limpiar/ activar el electrodo de trabajo
	Disminución del potencial de trabajo	Comprobar el potencial entre el electrodo de trabajo y el electrodo de referencia. En caso de potencial demasiado bajo, revisar el sistema de electrodos
Picos desconocidos en el cromatograma	Sistema de inyección sucio	Lavar el sistema de inyección con agua y luego con alcohol isopropílico. Accionar la válvula de inyección varias veces durante la fase de lavado Si se utiliza un autoinyector, llevar a cabo el proceso de inyección varias veces, seguir detalladamente las instrucciones que se encuentran en el manual del autoinyector
	Jeringuilla de inyección sucia	Lavar la jeringuilla con alcohol isopropílico y agua. Si fuera necesario, lavar brevemente con ácido nítrico al 15-20 %
	Contaminación del sistema HPLC con impurezas electroquímicamente activas	Pasivar la bomba, los capilares y el sistema de inyección con ácido nítrico
	Columna de HPLC contaminada	Cambiar la columna HPLC



GENARO PASETTI
Firm. - Director Técnico
16/06/2015

Problema	Causa posible	Solución
	Material de hermetización inadecuado en el sistema de inyección	La junta del rotor de las válvulas de inyección es normalmente de VESPEL, el cual se desgasta con el tiempo, causando interferencias en la detección electroquímica. Generalmente, se deberían utilizar juntas de rotor de TEFZEL
Tiempos de retención modificados	Oscilación de la temperatura ambiente	Garantizar que haya una temperatura ambiente constante. Termostatar la columna de HPLC si fuera necesario
	La velocidad de flujo oscila	Controlar la velocidad de flujo. Si la bomba de HPLC funciona irregularmente, controlar si hay burbujas de aire en el sistema. Comuníquese con el servicio técnico si fuera necesario
Picos dobles	Volumen muerto a la entrada de la columna de HPLC	Cambiar la columna HPLC
	Grietas en el relleno de la columna	Cambiar la columna HPLC
	Volumen muerto en el sistema de inyección	Comprobar el asiento del bucle de muestra. Comprobar los agujeros de la junta del rotor
Discontinuidades en todos los picos	Volumen muerto en el sistema	Comprobar que todos los extremos de los capilares estén bien ajustados
Picos anchos; colas	Capacidad de rendimiento de la columna de HPLC agotada	Cambiar la columna HPLC
Contrapresión alta	Acumulación de partículas sobre la columna analítica	Cambiar la columna HPLC o la precolumna
	Sistema de inyección obturado	Lavar el sistema de inyección primero con agua, luego con alcohol isopropílico y luego otra vez con agua. Repetir el proceso varias veces



GIANRO PASETTI
Firma: Director Técnico
Mu. Tec. 15.010

15 Bibliografía

1. Lenz T, Gossmann J, Schulte K-L, Salewski L, Geiger H. (2002) Diagnosis of pheochromocytoma. *Clin Lab* **48**(1-2): 5-18.
2. Wisser H, Bertsch T. Katecholamine und Katecholaminmetabolite, in: Thomas L (Hrsg). Labor und Diagnose. 6. Aufl, 1425-40, TH-Books Verlagsgesellschaft Frankfurt/Main (2005).
3. Hernandez FC, Sanchez M, Alvarez A, Díaz J, Pascual R, Pérez M, Tovar I, Martínez P. (2000) A five-year report on experience in the detection of pheochromocytoma. *Clin Biochem* **33**(8): 649-55.
4. Gerlo EA, Sevens C. (1994) Urinary and plasma catecholamines and urinary catecholamine metabolites in pheochromocytoma: Diagnostic value in 19 cases. *Clin Chem* **40**(2): 250-6.
5. Héron E, Chatellier G, Billaud E, Foos E, Plouin P-F. (1996) The urinary metanephrine-to-creatinine ratio for the diagnosis of pheochromocytoma. *Ann Intern Med* **125**(4): 300-3.
6. Witteles RM, Kaplan EL, Roizen MF. (2000) Sensitivity of diagnostic and localization tests for pheochromocytoma in clinical practice. *Arch Intern Med* **160**(16): 2521-4.
7. Van Duinen N, Steenvoorden D, Kema IP, Jansen JC, Vriends AH, Bayley JP, Smit JW, Romijn JA, Corssmit EP. (2010) Increased urinary excretion of 3-methoxytyramine in patients with head and neck paragangliomas. *J Clin Endocrinol Metab* **95**(1): 209-14.



GENARO PASETTI
Fam. - Director Técnico
Méd. Lic. 15.138

Apéndice I: Preparación automatizada de muestras con Gilson® ASPEC™

ASPEC™-Racks

El programa de Chromsystems ASPEC™ para metanefrinas en orina precisa los siguientes racks de muestras y de reactivos:

- Rack de muestras, código 28
- Solvent Rack, código 61
- DEC Racks móviles, código 101 (máx. 3 unidades) con sus correspondientes Collect Racks y viales colectores

Ocupación de los racks

Reactivo	Rack	Posición
Muestras	Rack de muestras	1-53
Tubos vacíos	Rack de muestras	55-107 (igual al número de muestras)
Ácido acético glacial concentrado	Rack de muestras	108
Neutralisation Buffer (2025/A)	Solvent Rack	109
Wash Buffer (2026/A)	Solvent Rack	110
Elution Buffer (2027/A)	Solvent Rack	111
Sample Clean Up Columns (2028/A)	DEC Rack(s)	113-220
Tubos vacíos ("Collect")	Collect Rack(s)	según el número de cartuchos SPE
Agua destilada	Depósito	

¡Antes de comenzar una secuencia de análisis es necesario lavar manualmente el diluidor con el líquido del depósito (Comando del menú: MANUAL - Prime dilutor)!

Volumen necesario de reactivos:

Para **cada muestra** se precisarán los siguientes volúmenes de reactivos:

Reactivo	Volumen
Int. Standard (2024/A)	50 µl
Neutralisation Buffer (2025/A)	3,15 ml
Wash Buffer (2026/A)	1,2 ml
Elution Buffer (2027/A)	2,2 ml
Ácido acético glacial concentrado	40 µl



GIANCARLO PAGETTI
Firma: Direttore Tecnico
Data: 12/03/2015

Cada una de las botellas ASPEC™ de reactivos deben contener, como mínimo, el volumen de reactivo necesario para el número de muestras que se van a procesar más un volumen de 30 ml. adicional.

Hidrólisis ácida de las muestras de orina

Para cada muestra, pipetear 50 µl de estándar interno en un tubo de ensayo (10 x 75 mm, apropiado para el rack 28 de ASPEC™). Después de añadir 500 µl de orina y ajustar el pH de la muestra a 0.8-1.0 con 2 N HCl.

Regla empírica: ¡Usar 40 µl de HCl 2 N por cada 500 µl de orina!

Cubrir los tubos de ensayo con papel de aluminio e incubar las muestras al baño maría a 90 - 100°C durante 30 minutos. A continuación, desechar el papel de aluminio y colocar los tubos de ensayo en las posiciones de muestras del rack ASPEC™. También se puede realizar la hidrólisis en un tubo de plástico para hidrólisis con tapón de rosca.

Principio del programa ASPEC™

Pipetear 330 µl del hidrolizado de orina en un nuevo tubo mediante el ASPEC™. Ahí se mezcla con el Neutralisation Buffer para su tamponamiento y dilución, quedando listo para ser sometido a los siguientes pasos de la preparación de la muestra (extracción, lavado y elución). **¡No es necesario realizar un ajuste manual del pH antes de la extracción!** El ASPEC™ acidifica automáticamente los eluatos resultantes, y pueden ser inyectados directamente en el sistema de HPLC.

El disquete ASPEC™ contiene dos programas:

Archivo de programa "METAU_NI":

El ASPEC™ sólo realiza la preparación de la muestra; los eluatos no son inyectados en el sistema de HPLC.

Archivo de programa "METAU":

Los eluatos acidificados son inyectados automáticamente en el sistema HPLC tras su procesamiento mediante ASPEC™ (es necesario configurar adecuadamente el sistema, ASPEC™ tiene que estar conectado al aparato de HPLC). El volumen de inyección viene ajustado de forma estándar en 40 µl, aunque, si fuera necesario, puede ser modificado en el comando del menú "16 - INJECT".

¡El comando del menú "19 - WAIT" sirve para la coordinar temporalmente las inyecciones ASPEC™ con respecto a la duración de la cromatografía, y debe ser ajustado adecuadamente!



GENARO PASETTI
Firm. Director Técnico
Mat. Núm. 15199

Control del ajuste automático del pH

Durante la preparación de la muestra permanece en el tubo un pequeño resto de la muestra de orina neutralizada (10 % aprox.), para controlar a posteriori el ajuste automático del pH.

- Una tonalidad azul-violeta indica que el ajuste del pH se realizó correctamente.
- Si la alícuota de la muestra es de color amarillo-marrón, la orina fue acidificada en exceso durante la hidrólisis; en este caso hay que volver a analizar la muestra **después de diluirla con agua destilada** (o tras aumentar su pH manualmente).

Requisitos de configuración

Este programa requiere un mando ASPEC™ mediante teclado.

Comprobar los siguientes puntos en el comando CONFIG del menú, y ajustarlos, si fuera necesario, a la configuración real del aparato ASPEC™.

Configuración SAMPLER:

Model

Arm

Rinsing station depth: normalmente 80 mm

Rinsing station positions: A y/o B, C

Injection loop(s): Posición y volumen

Calib. tubing volume

ID number

Configuración DILUTOR:

Tipo

Left syringe volume

Right syringe volume

Transfer tubing

ID number




GENARO PASETTI
Firma: Genaro Pasetti
Mód. Date: 15/10/06

Apéndice II: Observaciones sobre las sustancias peligrosas

Prestar atención a las siguientes observaciones sobre las sustancias peligrosas y tomar las medidas de seguridad apropiadas. Nuestras hojas de datos de seguridad contienen información adicional. Éstas se obtienen bajo pedido o se pueden descargar de nuestro sitio web: www.chromsystems.com.

Pictogramas	Indicaciones de peligro y consejos de prudencia
Mobile Phase (n° de pedido 2021, 2022)	
	<p>Atención</p> <p>H226 Líquidos y vapores inflamables.</p> <p>P210 Mantener alejado de fuentes de calor, chispas, llama abierta o superficies calientes. - No fumar.</p> <p>P241 Utilizar un material eléctrico, de ventilación o de iluminación/antideflagrante.</p> <p>P280 Llevar guantes de protección / gafas de protección.</p> <p>P243 Tomar medidas de precaución contra descargas electrostáticas.</p>
Calibration Standard (n° de pedido 2023)	
	<p>Atención</p> <p>H290 Puede ser corrosivo para los metales.</p>
Internal Standard (n° de pedido 2024, 2024/A1)	
	<p>Atención</p> <p>H290 Puede ser corrosivo para los metales.</p>
Interference Mix (n° de pedido 2099)	
	<p>Atención</p> <p>H290 Puede ser corrosivo para los metales.</p>
Wash Buffer (n° de pedido 2026, 2026/A1, 2026/A5)	
	<p>Atención</p> <p>H315 Provoca irritación cutánea.</p> <p>H319 Provoca irritación ocular grave.</p> <p>P305+P351+P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.</p> <p>P302+P352 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes.</p>


 GENARO PASETTI
 Firm. - Director Técnico
 Mas-Area-12/08

Pictogramas	Indicaciones de peligro y consejos de prudencia
Elution Buffer (n° de pedido 2027)	
	<p>Atención</p> <p>H290 Puede ser corrosivo para los metales. H315 Provoca irritación cutánea. H319 Provoca irritación ocular grave.</p> <p>P305+P351+P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. P302+P352 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes.</p>
<p>Estos elementos han sido clasificados como no peligrosos acorde a la legislación de la Unión Europea:</p> <p>Urine Calibration Standard (n° de pedido 2009, 2009/T) Internal Standard/High Resolution (n° de pedido 2044/HR) Neutralisation Buffer (n° de pedido 2025, 2025/A1, 2025/A5) Endocrine Urine Controls (n° de pedido 0040, 0050)</p>	

Apéndice III: Nota para el cálculo manual

Para el cálculo manual se necesitan los siguientes datos:

- Altura/área del pico del analito A en el cromatograma de la muestra = $A_{muestra}$
- Altura/área del pico del analito A en el cromatograma del estándar de calibración = $A_{estándar}$
- Altura/área del pico del estándar interno en el cromatograma de la muestra = $IS_{muestra}$
- Altura/área del pico del estándar interno en el cromatograma del estándar de calibración = $IS_{estándar}$
- Concentración de la sustancia A en el estándar de calibración = $C_{estándar}$

La concentración de la sustancia A en la muestra ($C_{muestra}$) se calcula de la siguiente forma:

$$C_{muestra} (\mu\text{g/l}) = \frac{A_{muestra} \times IS_{estándar}}{A_{estándar} \times IS_{muestra}} \times C_{estándar}$$


GENARO PASETTI
 Firm. - Quant. Tecnicos
 Mat. Pac. 15/08

Apéndice IV: Datos de validación

Con el fin de comprobar la linealidad y validar el método, se añadieron cantidades definidas de metanefrina, normetanefrina y 3-metoxitiramina a muestras de orina. Múltiples alícuotas de dichas muestras fueron sometidas al proceso de preparación de muestras.

Linealidad y límite cuantificación:

El método se desarrolla linealmente a partir del límite inferior hasta, por lo menos, el límite superior de análisis indicado.

Analito	Límite de cuantificación (µg/l) aprox.*	rango lineal (hasta por lo menos µg/l)
Normetanefrina	5	2500
Metanefrina	11	5000
3- Metoxitiramina	10	5000

* ¡Los límites del análisis dependen del estado del electrodo de trabajo empleado!

En caso de altas concentraciones, se puede inyectar un volumen de muestra inferior (10 µl) para evitar una sobrecarga de la señal del detector.

Tasas de recuperación:

La recuperación analítica se determinó a partir de la pendiente de las líneas de calibración de varias muestras de orina y diluciones de soluciones estándar acuosas:

Normetanefrina	94 %
Metanefrina	97 %
3-Metoxitiramina	95 %
Estándar interno (HMBA)	96 %

En orinas muy salinas, o en orinas demasiado acidificadas durante la hidrólisis, es posible que las tasas de recuperación de todos los componentes sean inferiores (~75 %), pero esta pérdida se compensará en el cálculo cuantitativo gracias a la presencia del estándar interno.

Reproducibilidad intra-ensayo:

El análisis de la reproducibilidad intra-ensayo se realizó mediante un procesamiento múltiple (n = 10) de la misma muestra; midiendo la concentración de los analitos, usando tres concentraciones diferentes:

Analito	Coeficiente de variación (%) (concentración en µg/l)		
	n = 10	n = 10	n = 10
Normetanefrina	1,4 (325)	0,8 (968)	1,0 (708)
Metanefrina	1,0 (189)	0,9 (362)	2,7 (275)
3- Metoxitiramina	2,1 (164)	0,9 (357)	1,8 (264)


 GERARDO PASETTI
 Ingeniero
 Director Técnico
 Mu. Tec. 15.008

Reproducibilidad inter-ensayo:

El análisis de la reproducibilidad inter-ensayo se realizó mediante un procesamiento múltiple y una medición de las concentraciones de metanefrina, normetanefrina y 3-metoxitiramina en dos controles de orina (rangos normal y patológico) en 10 series diferentes.

Analito	Coeficiente de variación (%) (concentración en µg/l)	
	n = 100	n = 100
Normetanefrina	2,7 (351)	1,7 (1427)
Metanefrina	2,4 (170)	2,6 (1206)
3- Metoxitiramina	4,4 (153)	3,5 (1276)



GIANNI PASETTI
Farm. - Director Técnico
Méd. Dir. 15136

Copy

EC-Declaration of Conformity

according to directive 98/79 EC on in vitro diagnostic medical devices

We, as manufacturer

Chromsystems Instruments & Chemicals GmbH
Am Haag 12
D-82166 Gräfelfing, Germany

declare on our own responsibility, that herein after called in vitro diagnostic medical devices for the HPLC determination of:

Nomenclature term: Other Toxicology
Nomenclature code: 12-09-02-90-00
Classification: other product

Product name: **Metanephrines in Urine**
Controls: **Endocrine Urine Control**

meets all applicable requirements of the directive 98/79/EC

Conformity assessment procedure:
Annex III of the directive 98/79/EC

Applied harmonized standards:
EN ISO 9001, EN ISO 13485, EN ISO 14971, EN ISO 18113-2, EN 980,
EN ISO 23640, EN 13641

Notified body: -

Munich, June 04, 2012



Michael Meier
Managing Director

Vers. 2.1

[Traducción]

Declaración de conformidad

sobre diagnósticos in-Vitro, según la directiva 98/79/CE

Nosotros, como fabricante,

*Chromsystems Instruments & Chemicals GmbH
Am Haag 12
D-82166 Gräfelfing, Alemania*

declaramos, bajo nuestra responsabilidad, que los siguientes productos diagnósticos in Vitro para el análisis por HPLC de:

Designación de la nomenclatura: Other Toxicology
Código de la nomenclatura: 12-09-02-09-00
Clasificación: otro producto

Designación del producto: **Metanefrinas en orina**

Controles: **Endocrine Urine Control**

cumplen con todas las exigencias de la directiva 98/79/CE:

Procedimiento para la evaluación de la conformidad:

Anexo III de la directiva 98/79/CE.

Normas armonizadas aplicadas:

*EN ISO 9001, EN ISO 13485, EN ISO 14971, EN ISO 18113-2, EN 980,
EN ISO 23640, EN 13641*

Organismo notificado --

Múnich, 04 de junio 2012

[Firma]

M. Meier
Director general



GERARDO FASETTI
Firma: Director Técnico
MÚNICH, 2012



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
1983/2023 - 40 AÑOS DE DEMOCRACIA

Hoja Adicional de Firmas
Anexo

Número:

Referencia: JENCK S A rótulos e instrucciones de uso

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 44 pagina/s.

Digitally signed by Gestion Documental Electronica
Date: 2023.09.14 08:37:50 -03:00

Digitally signed by Gestion Documental
Electronica
Date: 2023.09.14 08:37:53 -03:00



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
1983/2023 - 40 AÑOS DE DEMOCRACIA

Certificado - Redacción libre

Número:

Referencia: 1-0047-3110-008053-22-2

**CERTIFICADO DE AUTORIZACIÓN E INSCRIPCIÓN
PRODUCTO MÉDICO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO**

Expediente Nº 1-0047-3110-008053-22-2

La Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) certifica que de acuerdo con lo solicitado por JENCK S.A. ; se autoriza la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM), de un nuevo producto con los siguientes datos identificatorios característicos:

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS

Nombre Descriptivo: Kit de reactivos para el análisis por HPLC de metanefrinas en orina.

Marca comercial: ChromSystems Instruments & Chemicals GmbH

Modelos:

2020 Metanephrines in urine.

2010 Tubes with screw caps for hydrolysis

2021 Mobile Phase

2022 Mobile Phase (10x)

2024 Internal Standard

2025 Neutralisation Buffer
2026 Wash Buffer
2027 Elution Buffer
2028 Sample Clean Up Columns
2044/HR Internal Standard/High Resolution
2099 Interference Mix Metanephrine; para la identificación de interferencias
2120 HPLC Column
18002 Precolumn cartridge 4/10
2023 Calibration Standard
2009 Urine Calibration Standard
0040 Endocrine Urine Control, Normal Range
0050 Endocrine Urine Control, Pathological Range

Indicación/es de uso:

El kit de reactivos de Chromsystems Metanefrinas en orina es un producto de diagnóstico in-vitro para su uso en laboratorios clínicos que sirve para el análisis cuantitativo de la metanefrina, normetanefrina y 3-metoxitiramina en muestras de orina de pacientes mediante HPLC (cromatografía líquida de alta eficacia con detección electroquímica). El kit se emplea para realizar pruebas a pacientes de los que se sospecha que puedan padecer tumores productores de catecolaminas.

Este kit de reactivos permite el análisis fiable de metanefrina, normetanefrina y 3-metoxitiramina en orina por HPLC. Dado que las metanefrinas están presentes principalmente en forma de conjugados (glucuronidos o sulfatos), se realiza una hidrólisis ácida previa para separarlas. El pH necesario para la extracción en fase sólida siguiente se ajusta automáticamente al añadir el Neutralisation Buffer; si el indicador de pH añadido a la mezcla vira de amarillo a violeta indica que el ajuste de pH es correcto. Para el análisis cromatográfico se precisa un sistema de HPLC isocrático con detector electroquímico. La columna de separación optimizada y la fase móvil garantizan una separación segura de posibles interferencias.

Estos productos se utilizan con todos los reactivos de la marca ChromSystems Instruments & Chemicals GmbH

Forma de presentación: Para 100 análisis:

2020 Kit de reactivos para el análisis por HPLC de metanefrinas en orina, para 100 análisis:
2021 Mobile Phase 1000 ml
2023 Calibration Standard 10 ml
2024 Internal Standard 10 ml
2025 Neutralisation Buffer 2 x 300 ml
2026 Wash Buffer 2 x 250 ml
2027 Elution Buffer 2 x 250 ml
2028 Sample Clean Up Columns 100 unidades

Componentes disponibles individualmente para 100 análisis

2021 Mobile Phase 1000 ml
2022 Mobile Phase 10 x 1000 ml (1000 análisis)
2023 Calibration Standard 10 ml
2009 Urine Calibration Standard 5 x 5 ml (liof.)
2024 Internal Standard 10 ml
2044/HR Internal Standard/High Resolution 10 ml
2025 Neutralisation Buffer 2 x 300 ml

2026 Wash Buffer 2 x 250 ml
2027 Elution Buffer 2 x 250 ml
2028 Sample Clean Up Columns 100 unidades
0040 Endocrine Urine Control, rango normal 10 x 8 ml (liof.)
0050 Endocrine Urine Control, rango patológico 10 x 8 ml (liof.)

Accesorios para 100 analisis.

2120 Columna de HPLC, equilibrada y certificada con cromatograma 1 unidad
15009 Prefiltro PEEK, 5 µm 5 unidades
15010 Prefiltro de carcasa PEEK 1 unidad
18001 Soporte para cartuchos de precolumna 4/10 1 unidad
18002 Cartucho de precolumna 4/10 1 unidad
2010 Tubos de plástico para hidrólisis con tapón de rosca 50 unidades
2099 Interference Mix Metanephine 10 ml

Período de vida útil: 36 meses

2020 Kit de reactivos para el análisis por HPLC de metanefrinas en orina: Desmontar el embalaje y almacenar cada componente individualmente según su indicación.

2021 Mobile Phase: +18 / +30 °C

2023 Calibration Standard: +2 / +8 °C

2024 Internal Standard: +2 / +8 °C

2025 Neutralisation Buffer: +18 / +30 °C

2026 Wash Buffer: +18 / +30 °C

2027 Elution Buffer: +18 / +30 °C

2028 Sample Clean Up Columns: +18 / +30 °C

2022 Mobile Phase 10x: +18 / +30 °C

2009 Urine Calibration Standard: < -18 °C

2044/HR Internal Standard/High Resolution: +2 / +8 °C

0040 Endocrine Urine Control, Normal Range: +2 / +8 °C

0050 Endocrine Urine Control, Phatological Range: +2 / +8 °C

2120 Columna de HPLC: +18 / +30 °C

15009 Prefiltro PEEK, 5 µm Sin especificacion de temperatura.

15010 Prefiltro de carcasa PEEK 1 Sin especificacion de temperatura.

18001 Soporte para cartuchos de precolumna 4/10: +18 / +30 °C

18002 Cartucho de precolumna 4/10 +18 / +30 °C

2010 Tubos de plástico para hidrólisis con tapón de rosca. Sin especificacion de temperatura.

2099 Interference Mix Metanephine: +18 / +30 °C

Nombre del fabricante:

ChromSystems Instruments & Chemicals GmbH

Lugar de elaboración:

Am Haag12, 82166 Grafelfing, Alemania.

Grupo de Riesgo: Grupo C

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

Se extiende el presente Certificado de Autorización e Inscripción del PRODUCTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO PM 2188-9 , con una vigencia de cinco (5) años a partir de la fecha de la Disposición autorizante.

Expediente N° 1-0047-3110-008053-22-2

N° Identificadorio Trámite: 44506

AM

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE
Date: 2023.09.28 15:23:00 -03:00

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL
ELECTRONICA - GDE
Date: 2023.09.28 15:23:00 -03:00